

SÉRIE A, N° 896

N° D'ORDRE :

1711

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

R. HOVASSE

AGRÉGÉ DES SCIENCES NATURELLES
PRÉPARATEUR A LA SORBONNE

1^{re} **THÈSE.** — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES CHROMOSOMES.

2^e **THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **11 MAI** 1922 devant la Commission d'examen

Président : MM. PRUVOT.

Examineurs } LÉON BERTRAND.
DANGEARD.

PARIS

Edition du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
3, Rue d'Ulm

—
1922

SÉRIE A, N° 896

N° D'ORDRE :

1711,

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

R. HOVASSE

AGRÉGÉ DES SCIENCES NATURELLES
PRÉPARATEUR A LA SORBONNE

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES CHROMOSOMES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 11 MAI 1922 devant la Commission d'examen



Président : MM. PRUVOT.

Examineurs }

LÉON BERTRAND.
DANGEARD.

PARIS

Edition du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
3, Rue d'Ulm

1922

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... MOLLIARD, *Prof*... Physiologie végétale.
Doyen honoraire.... P. APPELL.

Profess. honoraires.. { P. PUISEUX.
 VÉLAIN.
 BOUSSINESQ
 BOUTY.

E. PICARD..... Analyse supér. et algèbre supérieure.
 G. BONNIER..... Botanique.
 KOENIGS..... Mécanique physique et expérimentale.
 GOURSAT..... Calcul différentiel et calcul intégral.
 HALLER..... Chimie organique.
 JOANNIS..... Chimie (Enseignement P. C. N.).
 JANET..... Electrotechnique générale.
 WALLERANT..... Minéralogie.
 ANDOYER..... Astronomie.
 PAINLEVÉ..... Mécanique anal. et mécan. céleste.
 HAUG..... Géologie.
 H. LE CHATELIER. Chimie générale.
 G. BERTRAND.... Chimie biologique.
 M^{me} P. CURIE.... Physique générale.
 CAULLERY..... Zoologie (Évolution des êtres organisés)
 C. CHABRIÉ..... Chimie appliquée.
 G. URBAIN..... Chimie minérale.
 EMILE BOREL..... Calcul des probabilités et phys. mathém.
 MARCHIS..... Aviation.
 JEAN PERRIN..... Chimie physique.
 G. PRUVOT..... Zoologie, anatomie, physiologie compar.
 ABRAHAM..... Physique.
Professeurs..... { CARTAN..... Mécanique rationnelle.
 Cl. GUICHARD.... Géométrie supérieure.
 LAPICQUE..... Physiologie.
 GENTIL..... Géographie physique.
 VESSIOT..... Théorie des groupes et calc. des variat.
 COTTON..... Physique.
 DRACH..... Application de l'analyse à la géométrie.
 Ch. FABRY..... Physique.
 CHARLES PEREZ... Zoologie, anatomie, physiol. comparées
 LÉON BERTRAND... Géologie appliquée et géologie région.
 MAURAIN..... Physique du Globe.
 DANGEARD..... Botanique (Enseignement P. C. N.).
 N... Physique théorique et phys. céleste.
 N... Mathématiques générales.
 LEDUC..... Physique.
 HEROUARD..... Zoologie.
 RÉMY PERRIER... Zoologie (Enseignement P. C. N.).
 LESPIEAU..... Chimie.
 SAGNAC..... Physique théorique et physique céleste
 RABAUD..... Biologie expérimentale.
 PORTIER..... Physiologie.
 BLAISE..... Chimie organique.
 PECHARD..... Chimie (Enseignement P. C. N.).
Secrétaire..... D. TOMBECK

A MON PÈRE

TÉMOIGNAGE DE RECONNAISSANCE ET D'AFFECTION

R. H.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

R. HOVASSE
Agrégré de l'Université,
Préparateur à la Sorbonne.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES CHROMOSOMES
Variation du nombre
et régulation en parthénogénèse

(Avec 20 figures dans le texte et 2 planches)

SOMMAIRE

	Pages
AVANT-PROPOS.	143
PREMIÈRE PARTIE.	
INTRODUCTION. — <i>Les chromosomes</i> . — Exposé historique des hypothèses auxquelles ils ont donné cours. Leur importance dans le monde biologique actuel	145
CHAPITRE PREMIER. — <i>Techniques</i> . — 1. Technique générale, préparations des objets d'étude. 2. Technique spéciale des numérations. Etude des mitoses. La numération chez les embryons parthénogénétiques. 3. Pratique de la Parthénogénèse par piqure.	151
SECONDE PARTIE. — LA VARIATION DU NOMBRE DES CHROMOSOMES.	
CHAPITRE II. — <i>La loi de constance du nombre et la Variation</i> . — 1. Historique. 2. La variation chez <i>Rana temporaria</i> . 3. La variation du nombre et son mécanisme présumé. Fusions et ruptures de chromosomes	161
TROISIÈME PARTIE. — LA RÉGULATION DU NOMBRE DES CHROMOSOMES.	
CHAPITRE III. — <i>Le nombre des chromosomes chez les individus parthénogénétiques</i> . — 1. Parthénogénèse naturelle. 2. Parthénogénèse expérimentale. Cas de Poursin. Cas de la grenouille. Recherches personnelles.	171
CHAPITRE IV. — <i>La régulation du nombre des chromosomes</i> . — 1. Ses caractères. 2. Époque à laquelle elle se produit. Mortalité des embryons parthénogénétiques. 3. Régulations anormales.	183

	Pages
CHAPITRE V. — <i>Le mécanisme régulateur (première partie).</i> —	
1. Historique. Cas de l'oursin. Cas de la grenouille. 2. Le matériel étranger	191
CHAPITRE VI. — <i>Le mécanisme régulateur (deuxième partie).</i> —	
1. L'augmentation de la chromatine nucléaire dans les noyaux haploïdes. Noyaux géants et division anaphasique. La télophase dans les mitoses de segmentation. 2. Possibilités physico-chimiques de l'augmentation. Les réserves de chromatine de l'œuf. Solubilité de la chromatine dans le cytoplasme. La chromatine cytoplasmique ou cytochromatine. L'équilibre cytochromatine-caryochromatine. 3. Relations entre l'augmentation de la chromatine et celle du nombre. La division longitudinale normale et le nombre. 4. La division anaphasique et la régulation. Les régulations anormales et l'absence de régulation	201
QUATRIÈME PARTIE. — RÉGULATION ET VARIATION DU NOMBRE DES CHROMOSOMES.	
CHAPITRE VII. — <i>L'équilibre des chromatines, mécanisme régulateur du nombre.</i> — 1. L'équilibre cyto-caryochromatine et la variation du nombre. 2. Signification du déséquilibre initial, cause de la régulation.	219
CHAPITRE VIII. — <i>Conclusions.</i> — Régulation, variation et individualité des chromosomes	223
RÉSUMÉ DES RÉSULTATS.	225
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	226
EXPLICATION DES PLANCHES.	

AVANT-PROPOS

Les résultats très importants auxquels sont arrivés les recherches de Parthénogénèse expérimentale depuis le début du siècle, et surtout dans les dernières années qui ont précédé la guerre, ont ouvert au chercheur une voie nouvelle.

Elève de M. BATAILLON, témoin de ses recherches pendant trois ans, initié par lui à la pratique de sa méthode, nous étions mieux placés que quiconque pour nous y engager. Mis au courant des techniques cytologiques par un petit travail sur la maturation de l'œuf de Grenouille, nous avons été amenés à orienter nos recherches sur le même matériel, du côté cytologique. Nous nous sommes laissé guider là par M. CAULLERY, et tout de suite, nous avons laissé de côté la parthénogénèse proprement dite pour ne la considérer, que comme une Expérience qui place dans des conditions particulières ces éléments nucléaires si spéciaux, si énigmatiques même, que sont les chromosomes.

A ces deux Maîtres va toute notre gratitude, au premier, parce que, tout en nous initiant, il a su nous communiquer un peu de sa passion pour les recherches de laboratoire ; au second, parce qu'il nous a indiqué le point précis à étudier, et surtout parce qu'il nous a fait connaître l'œuvre de PAOLO DELLA VALLE, œuvre qui a été pour nous rien moins qu'une révélation. Nous avons été séduit par l'effort qu'y fait l'auteur — que cette guerre meurtrière ne nous a malheureusement pas permis de connaître — pour donner des phénomènes cytologiques une véritable explication scientifique. Avec lui, nous avons essayé de rompre avec les faciles explications anthropomorphiques ou finalistes, qui, impressionnent l'imagination, mais ne satisfont pas la raison.

C'est là aussi une voie nouvelle, mais difficile, parce qu'elle chemine aux confins de la Biologie et de la Chimie Physique, où elle commence seulement à être tracée. Mais croyons-nous,

elle a cet avantage immense de ne pas avoir de bornes à l'horizon.

La première partie de ce travail a été entreprise à l'aide d'une bourse Commercy, qu'il nous soit permis de rendre hommage à la mémoire de F. HOUSSAY, à ce moment Doyen de la Faculté des Sciences, qui nous l'a fait obtenir, et a eu l'amabilité de nous accueillir dans son laboratoire de l'Ecole Normale Supérieure.

Nos plus sincères remerciements vont à M. PRUVOT, qui nous a fait l'honneur d'accepter la Présidence de notre thèse, enfin à MM. CAULLERY, PÉREZ et RABAUD, qui ont bien voulu accepter notre travail dans le *Bulletin biologique*.

PREMIÈRE PARTIE

INTRODUCTION

Les chromosomes. Exposé historique des hypothèses auxquelles ils ont donné cours. Leur importance dans le monde biologique actuel.

Quels que soient les agents fixateurs qu'il emploie, la technique de coloration qu'il suive, le cytologiste met presque toujours en évidence dans les cellules en cours de division des éléments de forme variable : bâtonnets droits ou diversement contournés, granules qui se caractérisent en fixant énergiquement les matières colorantes dites basiques telles que le carmin, l'hématoxyline, ou le vert de méthyle. Etudiant une série de stades de division cellulaire, il constate que ces éléments particulièrement colorables, ces *chromosomes*, ainsi qu'il les nomme, par le mécanisme compliqué de la mitose, se séparent chacun en deux moitiés et que chacune de celles-ci passe dans une des cellules filles.

Si un doute lui est venu touchant la réalité objective de ces formations dans les cellules vivantes, ce doute disparaît aisément : des cellules aussi transparentes que les globules sanguins du Triton, étudiées sur le vif lui permettent de suivre les chromosomes dans toutes les phases de la division. Photographiant une cellule vivante en mitose, à l'aide de lumière ultra-violette, il retrouve d'ailleurs sur sa plaque les éléments que lui montraient ses préparations fixées et colorées.

Que notre cytologiste soit enfin doublé d'un chimiste, et qu'il arrive à trouver dans la chromatine, substance même des chromosomes, une proportion inusitée de Phosphore, qu'il obtienne par leur désintégration moléculaire des produits aussi spéciaux que les bases puriques et pyrimidiques, il n'en faudra pas plus pour qu'il se laisse influencer par tout cet ensemble de faits. Il

considérera les chromosomes comme éléments particuliers et sera prêt, un peu de finalisme aidant, à les tenir comme susceptibles de jouer un rôle privilégié dans la physiologie cellulaire. Aussi n'y a-t-il pas lieu de s'étonner du grand nombre des chercheurs qui s'en sont occupés, pas plus que des résultats auxquels est parvenue aujourd'hui leur étude, résultats souvent élevés à la dignité de lois, et sur l'acquisition desquels on nous permettra de revenir brièvement ⁽¹⁾.

Dès 1881, FLEMING compte les chromosomes dans les mitoses épidermiques de la Salamandre, et en trouve 24 avec certitude dans 23 figures différentes. RABL confirme ses observations qu'appuie également le botaniste STRASSBURGER. Tous trois en arrivent ainsi à admettre avec plus ou moins de réserves la constance du nombre des chromosomes dans chacun des objets étudiés. Il faut aller cependant jusqu'en 1890 pour que BOVERI généralise leurs résultats sous forme d'une loi qu'il formule ainsi : « Pour chaque espèce, le nombre des chromosomes est constant, c'est-à-dire que dans les figures mitotiques de cellules homologues, il s'en trouve toujours le même nombre ».

VAN BENEDEN publiant en 1883 un travail d'ensemble sur la maturation de l'œuf et la fécondation de l'*Ascaris megalocephala*, constate le premier que les deux pronucléi, mâle et femelle, apportent à l'œuf la même quantité de chromosomes. C'est le point de départ d'une série d'hypothèses, émises presque simultanément par ROUX, KOELLIKER, HERTWIG, et surtout WEISSMANN, faisant de la chromatine la *substance héréditaire*.

VAN BENEDEN dans le même travail remarque que les chromosomes de la première division de l'œuf dérivent immédiatement de ceux des pronucléi ; d'emblée il généralise, admet qu'il en est de même dans chaque cellule du corps. Dans tout noyau, une moitié des chromosomes provient des éléments apportés par le spermatozoïde et est ainsi d'origine purement paternelle, tandis que l'autre moitié est strictement maternelle, dérivant des éléments de l'ovotide. Cette idée de la continuité

(1) Le résumé historique que nous faisons ici a été réduit à l'indispensable de même les références bibliographiques qui s'y rapportent. Le lecteur désireux de faire plus ample connaissance avec la question pourra se reporter à FICK (1906) où il trouvera une abondante bibliographie, ou aux petits ouvrages de CAULLERY (1913) ou de BRACHET (1915).

des chromatines paternelles et maternelles se trouve complétée par une hypothèse de RABL (1885). Comparant l'un à l'autre un noyau en prophase et un noyau en anaphase, il est frappé de l'analogie de la disposition des chromosomes dans ces deux cas, et il en conclut à la *persistance des chromosomes dans le noyau au repos*.

C'est alors que BOVERI, à la suite de longues et minutieuses recherches sur de nombreux matériaux, encadre ses résultats personnels et ceux de ses devanciers par une hypothèse beaucoup plus générale, qu'il s'efforce de transformer en loi : « *Les éléments chromatiques sont des individus véritables conservant même cette Individualité dans le noyau au repos* ».

L'ensemble de tous ces résultats : *Constance du nombre, Valeur héréditaire de la chromatine, Persistance des chromosomes dans le noyau au repos*, et surtout *Individualité des chromosomes* ; toutes les controverses auxquelles ils ont donné lieu, ont attiré sur les segments chromatiques l'attention d'un nombre toujours plus grand de chercheurs, si bien qu'à l'heure actuelle il est bien peu d'espèces animales ou végétales dont la forme et le nombre des éléments chromatiques n'aient été étudiés.

Tout ceci n'a pas manqué de porter des fruits. Les glandes génitales des Insectes à la suite des travaux d'HENKING (1891) et de nombreux autres par la suite, ont montré qu'il existe dans beaucoup d'espèces, et principalement chez les Orthoptères, Hémiptères et Coléoptères, un nombre de chromosomes différent chez le mâle et chez la femelle. Différence qui tient le plus souvent à l'existence d'un ou plusieurs éléments surnuméraires, semblant caractériser l'un des sexes. Un grand nombre de biologistes ont été ainsi amenés à donner à ces éléments spéciaux la valeur de *déterminants sexuels*. Devant les difficultés que soulève une pareille hypothèse, le prudent cytologiste qu'est WILSON sans regarder comme tels les chromosomes surnuméraires les considère « comme un anneau dans une chaîne de facteurs, grâce auxquels le sexe est déterminé ». L'importance de cet anneau que les réactifs colorants rendent perceptible à nos sens apparaît comme très grande pour tous les biologistes qui s'intéressent au problème ardu de la Sexualité ; c'est même la première fois qu'il apparaît dans ce domaine

un fait d'une clarté aussi saisissante, comme le fait remarquer BRACHET (1916).

L'impression produite par cette découverte a été d'autant plus considérable qu'elle a été regardée comme une démonstration d'hypothèses formulées sur l'hérédité à la suite de la redécouverte faite en 1900 de lois de l'hybridation dues une trentaine d'années auparavant au moine Autrichien MENDEL.

Voici brièvement en quoi consistent ces lois. Soient deux variétés d'une même espèce de Pois, différant l'une de l'autre par un *caractère* tel que la couleur des fleurs, ici rouge, là blanche. Effectuons le croisement de ces pois. Nous obtenons une première génération dite *hybride*, dans laquelle tous les individus se ressemblent (fleurs rouges dans le cas particulier). Croisons à nouveau entre eux ces hybrides. La nouvelle génération nous fournit trois sortes d'individus, en proportion rigoureusement définie : $1/4$ du type paternel, $1/4$ du type maternel, ces deux portions étant *pures*, c'est-à-dire redonnant par la suite constamment leur variété, sans modifications. Le reste est du type hybride, et redonne, à la génération suivante la même descendance en trois portions dissemblables ⁽¹⁾. Tout se passe comme si les caractères des parents restaient unis dans les cellules des hybrides pour se disjoindre ensuite au moment de la formation des gamètes, chacun de ceux-ci ne renfermant qu'un seul caractère, étant pur, suivant le langage de MENDEL. Du croisement de ces gamètes résultera une répartition des produits de seconde génération selon les proportions indiquées plus haut.

Si l'on compare maintenant le comportement des caractères, à ce que l'on sait de celui des chromosomes au cours des divisions dites de Maturation sexuelle, on ne peut manquer d'être frappé de l'analogie qui existe là ; l'hypothèse des *Unités représentatives*, telle qu'elle a été formulée par SUTTON (1902) apparaît comme toute naturelle.

Reprenons le cas précédent en faisant cette supposition qu'un individu-chromosome existant dans les éléments sexuels de chaque parent avant le premier croisement, représente le

⁽¹⁾ Les résultats expérimentaux sont moins simples, par suite de l'analogie d'aspect que présentent généralement les hybrides avec l'un des deux parents suivant qu'il y a *dominance* mâle ou femelle.

caractère origine de la différence d'aspect entre le père et la mère. Appelons P et M ces éléments, et qualifions les d'*homologues*. La fécondation faite, la segmentation répartit dans toutes les cellules de chaque hybride, à la fois P et M . Dans les glandes génitales, au moment où se prépare la réduction numérique, admettons, avec la majorité des cytologistes, que les éléments homologues P et M s'accolent longitudinalement au stade *synapsis*, pour former le couple PM . Sur le fuseau de la première division de maturation le couple se dissocie en ses éléments : P et M passent chacun à un pôle du fuseau. On obtient donc deux cellules dissemblables. La seconde division de maturation ne fait que doubler leur nombre en respectant cette dissemblance. On obtient en fin de compte deux groupes de deux éléments renfermant l'un P et l'autre M . Du croisement de ces deux variétés de gamètes d'un sexe avec d'autres également dissemblables, résultent trois combinaisons possibles, que l'on peut représenter comme le produit algébrique : $PM \cdot PM = PP + 2PM + MM$. Soit donc une moitié du type PM hybride, et $1/4$ de chaque type pur P ou M .

Nous retrouvons donc ainsi le résultat obtenu plus haut expérimentalement.

La grande simplicité de cette hypothèse, le fait qu'elle a permis de rendre compte même de certaines anomalies de croisement, lui ont conquis une grande faveur, qui a rejailli sur l'hypothèse de l'Individualité. Une école de biologistes américains a même tenté durant ces dernières années d'en élargir encore le cadre. MORGAN, poursuivant des recherches extrêmement poussées dans le domaine de l'hérédité sur la mouche du vinaigre, *Drosophila ampelophila*, parvient à interpréter tous ses résultats expérimentaux par des considérations sur les chromosomes de l'animal. Ceux-ci sont au nombre de 4 paires de tailles très différentes. Il répartit les caractères héréditaires très nombreux de cette mouche en 4 groupes dont l'importance variée paraît proportionnelle à la masse relative de chaque paire d'éléments. Bien plus, à l'aide d'une méthode compliquée, appuyée sur d'autres hypothèses accessoires, les auteurs américains sont arrivés à dresser des sortes de plans des chromosomes où chaque caractère a sa place marquée.

C'est là le point culminant de l'échafaudage bâti sur les chro-

mosomes, échafaudage d'une importance théorique considérable. Cependant la construction, quand on l'étudie de près, paraît encore bien problématique : les hypothèses y chevauchent nombreuses, appuyées les unes sur les autres, paraissant se démontrer mutuellement, le support commun à toutes étant l'hypothèse de BOVERI, l'Individualité des éléments chromatiques.

De nombreux auteurs ont déjà fait ressortir la faiblesse de l'édifice, en en critiquant presque chaque pierre. Sans vouloir citer toutes leurs critiques, ce qui dépasse singulièrement le cadre de cette étude, nous nous bornerons à parler de celles ayant trait aux deux hypothèses sur lesquelles nos recherches personnelles nous permettent de formuler une opinion. Une étude du nombre de chromosomes dans les cellules d'individus normaux de Grenouille rousse, *Rana temporaria* (L.) nous mènera à discuter la valeur de la loi de Constance du nombre, tandis que l'observation du comportement des chromosomes chez les embryons parthénogénétiques du même animal, nous permettra d'aborder l'hypothèse de l'Individualité.

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE GÉNÉRALE ET SPÉCIALE DES NUMÉRATIONS DE CHROMOSOMES. PRATIQUE DE LA PARTHÉNOGÉNÈSE PAR PIQURE

Le dénombrement des chromosomes dans une cellule en division est toujours une opération longue et délicate, n'aboutissant à une certitude que dans une minorité de cas. Avant de l'entreprendre l'observateur doit s'assurer qu'il opère dans les meilleures conditions possibles, tant pour ce qui concerne les objets étudiés que pour les moyens d'observation dont il dispose. L'opération une fois entreprise, pendant toute sa durée, il lui faut enfin se tenir en garde contre lui-même, afin de rendre aussi négligeable que possible ce facteur subjectif que les astronomes et physiciens qualifient d'équation personnelle.

1. Technique générale, préparation des objets d'étude.

A. *Fixation.* — Nous avons utilisé trois fixateurs principaux. Le liquide de FLEMMING, solution forte, nous a rendu de bons services pour la fixation des embryons avancés et celle des larves. Utilisé également pour les œufs vierges ou au début de la segmentation, il produit d'excellentes fixations de la couche corticale, mais ne pénètre jamais au centre de l'œuf.

Le fixateur chromo-acétique, préconisé par BATAILLON convient à merveille pour le travail courant : il pénètre parfaitement tous les œufs, et si les éléments chromatiques ne sont pas toujours aussi nettement distincts qu'avec le précédent, il a au moins le mérite de permettre presque toujours l'obtention de coupes en série parfaites, ce qui est indispensable, au moins pour l'étude des premiers stades de la segmentation.

De bons résultats ont été obtenus également par l'emploi du liquide de GILSON, pour ce qui concerne les œufs non mûrs, non pourvus encore de leur gangue mucilagineuse. Il fixe moins bien toutefois que le liquide de FLEMMING.

Après chacun de ces fixateurs, et principalement après les deux premiers, un lavage très soigné est indispensable, sous peine de voir ultérieurement les coupes s'effriter sur le rasoir.

B. Inclusion. — L'inclusion n'est nécessaire que pour les embryons entiers ou les œufs. Chez les têtards et les adultes, il est souvent préférable d'étudier des membranes minces, telles que l'épiderme ou le péritoine étalées simplement sur lame, ou entre lamelles, aussitôt après lavage. L'inclusion des embryons se fait selon les procédés habituels. Celle des œufs exige quelques précautions indispensables. La déshydratation ne doit pas dépasser 10 minutes. Le milieu de transition à employer ensuite est le toluène. Il faut éviter le xylol après lequel il devient difficile d'obtenir de bonnes coupes. On y laisse les œufs de 8 à 10 minutes en changeant le liquide au moins une fois. Le bain de paraffine maintenu à 50° ne doit pas non plus dépasser la même durée. Il est inutile de changer de bain. On oriente ensuite rapidement les œufs suivant le résultat désiré. Il ne reste plus qu'à refroidir brusquement les blocs.

Les coupes sont faites à 5, rarement à 3 μ . Il arrive fréquemment que les rubans de coupe s'électrisent sur le rasoir ce qui risque de les faire perdre. On remédie à cet inconvénient en les recevant contre le tranchant même du rasoir avec une bande de papier, ou bien en coupant les blocs dans une salle dont l'air est très chargé d'humidité, et sans doute rendu ainsi conducteur.

Jamais il ne nous a été nécessaire de collodionner nos coupes une à une sur le rasoir, par contre, chaque fois qu'une série montre, une fois collée sur lame par un des procédés courants (albumine ou gélatine), des œufs brisés ou fendillés, nous la collodionnons avant la coloration. On évite ainsi la perte de petits fragments d'œufs, qui, mal étalés, n'adhèrent pas à la lame et s'en iraient au premier lavage. Si la solution de collodion est suffisamment étendue, la mince pellicule qui en résulte ne gêne aucunement pendant les traitements ultérieurs.

C. Coloration. — L'hématoxyline de HEIDENHAIN, employée après la liqueur de GILSON est très utile pour les ovocytes possédant encore leur vésicule germinative. Elle devient mal utilisable par la suite du développement de l'œuf, la teinte qu'elle confère au vitellus étant la même que celle des éléments chromatiques.

Après les fixateurs chromiques, il est cependant préférable d'utiliser les couleurs d'aniline. La Safranine associée au Vert lumière (Lichtgrün) suivant la méthode de BENDA donne les colorations les plus pratiques. Elle permet de distinguer très facilement les chromosomes des plaquettes vitellines, la teinte qu'elle donne à celles-ci étant beaucoup plus pâle. Le violet de Gentiane associé à l'éosine ou à l'orange nous a rendu aussi de bons services pour la coloration des membranes, après étalement.

2. Technique spéciale des numérations

Les préparations une fois obtenues, bien fixées et clairement colorées, il s'agit d'effectuer le dénombrement des chromosomes.

A. Choix des mitoses. — Le cas le plus simple est celui des membranes étalées : à l'aide d'un objectif faible, les mitoses sont repérées. On en fait d'abord un premier tri, simplement en considérant leur taille. Ne peuvent être utilisées pratiquement que celles dont le fuseau achromatique dépasse une quinzaine de μ , de longueur. En dessous de ce chiffre, le tassement des chromosomes est généralement tel qu'il est souvent impossible, même après une bonne fixation d'en donner un nombre approximatif. C'est pourquoi l'épiderme des larves, ou le péritoine constituent un bon matériel d'étude, leurs mitoses étant d'assez forte taille. Les autres cinèses somatiques — érythrocytes exceptés — sont généralement trop petites.

La forme des segments a une importance beaucoup plus grande. Elle doit être aussi peu compliquée que possible, sinon, même avec de grosses mitoses, la numération devient incertaine. C'est ainsi qu'il est toujours difficile, parfois impossible de décider, en présence d'un élément en forme de chiffre 3,

si l'on a affaire à un seul élément contourné, ou bien à deux anses en V accolées par une de leurs branches. A plus forte raison si les segments chromatiques sont tordus ou retordus plusieurs fois.

Le critérium de la forme va nous guider dans le choix de la période mitotique la plus favorable à l'étude. Pendant la prophase, les chromosomes sont très tordus, et même dans les figures très grosses, on s'expose de ce fait à ne pouvoir arriver qu'à un chiffre incertain. A mesure que l'on se rapproche de la métaphase, la torsion devient de moins en moins gênante, les segments prennent une forme massive et régulière. C'est le moment propice aux numérations, car bientôt survient la division longitudinale, et souvent les moitiés des chromosomes se séparent plus ou moins, rendant à nouveau le résultat incertain. Parfois la division longitudinale ne se constate que tardivement et la plaque équatoriale, surtout s'il est possible de la voir en projection horizontale, permet une numération relativement facile. Les anaphases en vue polaire sont utilisables également, mais seulement quand les couronnes filles sont encore au début du retour polaire. Par la suite elles se tassent et les éléments deviennent indistincts.

L'opération se complique quand on opère sur coupes, la certitude devient tout de suite plus faible, sauf quand le plan équatorial des mitoses étudiées se trouve coïncider avec le plan de la préparation, et qu'il n'y a de segments chromatiques que sur une seule coupe. Par contre cette méthode permet seule d'étudier les mitoses de maturation de l'œuf. Celles-ci, en raison de leur taille considérable, du nombre peu élevé des chromosomes, dont la forme est d'ailleurs massive, constituent un matériel de choix pour les numérations, bien qu'elles exigent ultérieurement un travail supplémentaire de reconstitution.

B. *Etude des mitoses*. — La division favorable une fois repérée, il faut l'étudier, et à cet effet disposer d'un excellent système optique, puissamment éclairé. Nous avons utilisé trois objectifs différents, deux Apochromats de ZEISS (1 mm. 5 et 2 mm., ce dernier d'ouv. num. = 1,40)⁽¹⁾ et un Achromatique puissant de

(1) Pour obtenir de ce dernier objectif son maximum de rendement, rappelons qu'il faut l'employer avec un condenseur d'ouverture numérique de 1,40, et en

STIASSNIE (1/18, ouv. num. 1,30). Ce dernier objectif, malgré une correction moins parfaite, nous a été très utile en raison du peu de profondeur de son champ, permettant ainsi facilement de distinguer des objets non exactement sur le même plan. L'usage de l'éclairage oblique et de lumière monochromatique, bleue ou verte, nous a été d'un grand secours.

A l'aide d'un appareil à dessiner, la mitose est mise en place sur le papier. On passe ensuite à l'étude de chaque chromosome en particulier, *sans jamais s'inquiéter du nombre total avant que ce travail ne soit parfaitement terminé*. Sinon, il est très difficile de ne pas se laisser guider, dans les cas difficiles, par une idée préconçue. DELLA VALLE qui a, lui aussi, été gêné par cette difficulté d'ordre subjectif, recommande de dessiner la même figure deux ou trois fois de suite, à intervalles d'au moins un mois et de confronter ensuite les dessins obtenus. Le procédé est excellent, il mène à la certitude dans les cas faciles à interpréter, mais là où existe une difficulté, elle subsiste identique, même après trois études successives. Il est donc indispensable d'éliminer les divisions où existe une difficulté d'interprétation.

Suivons maintenant à titre d'exemple, les opérations qu'exige une numération dans le cas moyennement compliqué offert par une figure d'émission de globules polaires. La mitose dont il s'agit dessine un ellipsoïde de révolution autour d'un grand axe d'une quarantaine de μ , le petit axe approchant de 20 microns. Les coupes suivant la longueur du fuseau sont généralement au nombre de trois ou quatre.

L'émission polaire une fois repérée, on vérifie que la série est complète. En même temps, afin de pouvoir effectuer plus tard une reconstitution, on détermine l'ordre de superposition des coupes. On arrive à savoir ainsi que, à une coupe donnée, celle qui succède sur la lame en allant vers la droite, était dans l'œuf placée par-dessus ou par-dessous.

Cecifait on dessine chaque coupe ainsi qu'il a été dit, en se bornant à tracer les contours des éléments chromatiques, du fuseau, et de l'extérieur de l'œuf. Puis par de légers déplacements de la vis micrométrique, on cherche quels sont les élé-

interposant une goutte d'huile de cèdre entre la lentille supérieure de celui-ci et la préparation.

ments qui affleurent les plans de coupe. On les ombre alors, différemment suivant qu'ils sont en haut ou en bas de la coupe. Ce travail fait, pour chaque coupe, on compare les dessins deux à deux et on étudie les correspondances. Comme la forme des éléments y est régulière et massive, ce travail est relativement facile. Le tout une fois terminé, et alors seulement on effectue le dénombrement. Un doute peut subsister sur un ou plusieurs éléments. On détermine alors deux nombres possibles, l'un maximum, l'autre minimum.

Dans ces mêmes divisions polaires le travail peut être sim-



Fig. I. — Vue polaire d'une couronne anaphasique de la première émission polaire.



Fig. II. — Anaphase de première émission polaire. Une seule coupe est figurée. Remarquer la correspondance des chromosomes deux à deux de couronne à couronne.

plifié, si la coupe est normale au fuseau et qu'il n'y a de segments chromatiques que sur une coupe (fig. I). Si l'on a affaire à des anaphases, on effectue à la fois la numération sur les deux couronnes filles, et l'on a ainsi une vérification particulièrement facile, quand au début de l'anaphase, les deux séries de chromosomes se correspondent parfaitement d'une couronne à l'autre, même à la division I (*contra* DEHORNE) (fig. II).

La numération chez les œufs parthénogénétiques. — Dans les cas que nous venons d'envisager, nous avons cherché seule-

ment à obtenir le maximum de certitude dans nos numérations, quitte à laisser de côté les figures qui ne nous paraissaient pas assez nettes. Le problème qui se pose à propos des embryons parthénogénétiques est un peu différent. Étant donné un embryon, il s'agit de savoir quel est le nombre de ses chromosomes, quelles que soient les mitoses auxquelles on a affaire. Dans ces conditions, il est impossible le plus souvent d'obtenir autre chose qu'une approximation. On cherche à déterminer avec la plus grande sûreté possible le nombre minimum et le

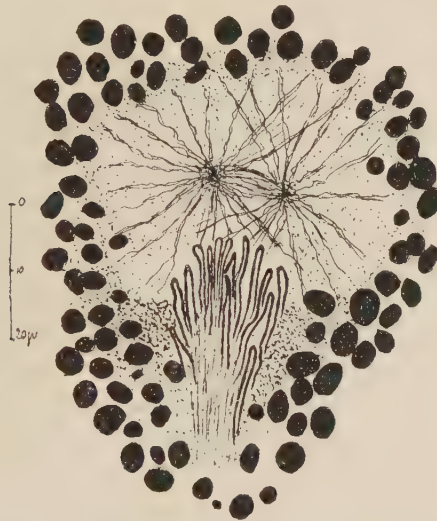


Fig. III. — Bouquet anaphasique dans une blastula parthénogénétique. Une seule coupe dessinée (sur deux).

nombre maximum. Si l'erreur relative dépasse $1/5$, on ne tient pas compte de sa numération, quitte à ne pouvoir utiliser l'embryon en question.

La valeur des résultats varie d'ailleurs beaucoup pendant le cours du développement. Chez le tout jeune embryon, où les fuseaux de division sont très longs, les chromosomes sont toujours fins et contournés. Il est impossible de tirer parti des métaphases, même en vues polaires. Un seul stade permet la numération, c'est l'anaphase (fig. III). Au moment du retour polaire, les anses chromatiques très allongées se trouvent ser-

rées du côté de l'équateur par le retour des enclaves vitellines sur l'ancien territoire du fuseau. Au contraire les sphères attractives devenues très larges, se vacuolisant complètement sous l'action des fixateurs, semblent constituer une zone déprimée où les anses s'épanouissent comme un bouquet. On peut en dénombrer alors facilement les éléments sur les coupes bien parallèles à l'axe du fuseau. Il y a cependant toujours une erreur, car presque jamais nous n'avons obtenu le même nombre sur les deux couronnes filles ⁽¹⁾.

A partir de la gastrula, les chromosomes redeviennent massifs, au moins à la métaphase, et la valeur des résultats redevient très bonne.

D. Utilisation de la relation nucléo-plasmatique et des autres relations nucléaires. — On sait en quoi consiste la relation nucléoplasmatique (K/P relation) : à un noyau de taille déterminée correspond un territoire cytoplasmique également déterminé. D'autre part BOVERI (1904) a montré que la surface du noyau de l'oursin est proportionnelle au nombre de chromosomes qu'il renferme. Chez les Batraciens, G. HERTWIG (1913) admet que c'est plutôt avec le volume qu'a lieu la proportionnalité. Il est donc possible, par une simple mesure du diamètre d'un noyau, ou même d'une cellule, de connaître approximativement le nombre de segments chromatiques qu'il renferme. La méthode est pratiquement très utile, mais seulement pour des embryons avancés en âge. Plus tôt dans le développement, elle est absolument incertaine, et même dangereuse. Néanmoins, elle rend de grands services, principalement quand on dispose d'embryons témoins normalement fécondés, avec lesquels on peut effectuer une comparaison.

3. Pratique de la parthénogénèse par piqure

Les écrits de BATAILLON, de HERLANT, l'ouvrage de DELAGE et GOLDSCHMIDT, ont contribué à vulgariser ce procédé. Nous avons appliqué la technique même de BATAILLON, telle qu'il nous l'a apprise lui-même. Nous en avons seulement modifié un détail

⁽¹⁾ Au point que nous en venons à douter de la régularité du partage des anses filles, au moins au début de la segmentation.

en rapport avec nos besoins. Il nous fallait le plus grand nombre de segmentations possibles. BATAILLON arrive à ce résultat par ses œufs « au cyanure » obtenus de la façon suivante.

Lés œufs pris dans l'utérus sont plongés dans une solution de cyanure de potassium à 0,8 0/0 ; on les y soumet pendant trois heures à un secouage modéré et ininterrompu. Leur gangue se dissout. Ils sont ensuite lavés dans l'eau physiologique, on les y conserve. Puis après les avoir souillés de sang on les pique. Plus des deux tiers se segmentent.

En raison de la fragilité des œufs nus, ce procédé ne nous a pas donné de très bons résultats, la mortalité des larves, déjà très élevée après le procédé ordinaire est accrue par celui-ci. Nous avons cherché alors à améliorer la technique des inoculations, sur les œufs munis encore de leur gangue. La coagulation du sang nous a paru responsable du petit nombre des développements obtenus en badigeonnant simplement les œufs avec le sang recueilli à une plaie. Nous avons cherché à rendre le sang incoagulable. Le procédé qui nous a donné les meilleurs résultats s'est trouvé être celui de DELEZENNE. A l'aide d'une fine canule de verre on pique un arc aortique de grenouille, puis on enfonce la canule dans le vaisseau d'environ un centimètre en amont de la plaie. La première goutte de sang qui s'écoule est rejetée, le reste est incoagulable. On laisse déposer des globules, on enlève le plasma, et avant de piquer chaque œuf on trempe la pointe du stylet dans l'amas de globules. Nous arrivons ainsi à inoculer plus d'œufs qu'avec la méthode du cyanure ; le seul inconvénient du procédé est qu'il augmente la proportion des clivages en trois ⁽¹⁾.

Le sang de tortue donne aussi de bons résultats, mais il est d'un maniement plus difficile, se coagulant plus facilement. La pulpe de rate de Cobaye, que BATAILLON préconise, ne nous a pas semblé préférable au sang. On observe du reste de grosses différences dans les résultats. d'une grenouille à l'autre, ce qui tient sans doute à l'épaisseur de la gangue, plus ou moins grande suivant les individus.

Les embryons obtenus sont toujours plus fragiles que les fécondés. Il faut leur maintenir une eau fraîche et aérée, ne

(1) Pour explication de ce terme, voir plus bas, p. 497.

jamais les détacher des récipients où ils sont fixés : on détériore ainsi presque toujours la gangue, l'éclosion est prématurée et le têtard ne survit pas. Dès que les larves se nourrissent, nous leur avons fourni soit des épinards très cuits, soit de l'amidon mêlé de pulpe de têtard. Ces deux sortes d'aliments réussissent très bien avec les larves normalement fécondées. Malgré tous nos soins, en deux saisons d'élevage, après avoir piqué près de 100.000 œufs nous n'avons obtenu que 2 têtards qui aient vécu jusqu'à leur métamorphose, sans la dépasser ni l'un ni l'autre.

SECONDE PARTIE

La variation du nombre des chromosomes.

CHAPITRE II

LA LOI DE CONSTANCE DU NOMBRE DES CHROMOSOMES ET LA VARIATION

Telle qu'elle est formulée plus haut, la loi de constance n'a pas été acceptée par tous les auteurs. Dès 1894, VOM RATA, puis HECKER (1899) remarquent que le nombre normal ne se trouve pas toujours absolument constant. HERTWIG (1896) parle même de sa *variabilité*. Si bien que BOVERI (1904) atténue la rigidité de son premier énoncé en écrivant que le nombre est partout le même « ou à *peu près* le même ». Depuis lors il a été fréquemment signalé des cas de variabilité. PAOLO DELLA VALLE (1909) consacre à cette question un important travail tant bibliographique que cytologique. Il relève dans la littérature toutes les données concernant le nombre des chromosomes, et en arrive ainsi à constater que souvent des auteurs différents étudiant une même espèce animale lui trouvent chacun un nombre différent de chromosomes, mais n'en concluent pas moins le plus souvent à la constance du nombre. Quand l'écart trouvé ainsi est trop considérable pour être négligé, plutôt que de suspecter la loi, on fait intervenir une hypothèse nouvelle, ou bien on crée une nouvelle variété. Presque toujours, dans les cas d'observations bien faites, *le nombre des chromosomes, dans les mitoses, n'est pas trouvé constant, mais oscille entre des limites déterminées.*

Il dénombre pour sa part avec le plus grand soin, 40 cinèses dans le péritoine de larves de Salamandre. Les chiffres obtenus,

ordonnés suivant leur fréquence, lui fournissent une courbe binômiale caractéristique, le nombre donné comme constant étant celui de fréquence maximum.

La loi de constance est donc une loi approximative, résultat dont il fait ressortir l'incompatibilité avec l'hypothèse de l'individualité.

Violamment critiqué par de nombreux auteurs, en première ligne par E.-B. WILSON qui lui oppose la fixité du nombre par lui constatée chez de nombreux Insectes, particulièrement Hémiptères, l'œuvre remarquable de l'auteur italien n'a pas eu tout le succès qu'on en pouvait attendre. Rares sont les cytologistes qui en font mention, tant se trouve enracinée dans les esprits la croyance du contraire. KRIMMEL (1910) puis plus récemment R. HANCE (cf. p. 164) ont cependant confirmé ses recherches.

1. La variation chez « *Rana Temporaria* » (L.)

L'étude du nombre des chromosomes chez les embryons et larves parthénogénétiques de grenouille nous ayant montré une importante variabilité, nous l'avons attribuée tout d'abord à un état pathologique spécial à ces ébauches, admettant nous-même implicitement la loi de constance, malgré les discordances des auteurs touchant le nombre des chromosomes de l'animal considéré. Nous résumons ici en un tableau l'opinion des principaux auteurs qui ont étudié soit *Rana temporaria* — soit des espèces voisines (*R. esculenta*, *R. pipiens*).

Nombre diploïde admis. Espèce	42 <i>R. temp.</i>	46 <i>R. escul.</i>	46 à 20 <i>R. temp.</i>	24 <i>R. temp.</i>	25 et 26 <i>R. pipiens</i>	26 <i>R. sp. ?</i>
Auteurs :	A. DE- HORNE	C. CHAMPY	CARNOY et LEBRUN	VOM RATH	LEVY	GOLD- SCHMIDT
Date :	1910-1911 (1)	1913	1899 et 1901	1894 BATAILLON 1910	1915 SWINGLE 1917	1920

(1) Le chiffre de A. DEHORNE résulte vraisemblablement d'une erreur d'interprétation.

Dans le but de vérifier cette hypothèse nous avons alors effectué comparativement une série de numérations, soit des mitoses de maturation pendant les deux divisions de réduction, soit sur des mitoses somatiques dans des gastrulas obtenues aux dépens d'œufs normalement fécondés.

Nos résultats sont consignés dans les trois tableaux ci-joints.

I. — *Prophases, métaphases et anaphases de division (nombre haploïde)*

Nombre des segments	8 ou 9	10 ou 11	11 ou 12	12	12 ou 13	13 ou 14	14	14 au 15	16 à 19
Fréquence.	1	1	2	9	2	2	3	1	1

I. — *Métaphases de seconde émission polaire (nombre haploïde)*

Nombre	10 à 11	11	12 à 13	14	15
Fréquence	3	2	6	2	1

III. — *Mitoses somatiques d'embryon (1)*

Nombre	19 à 21	22	24 à 26	26	26 à 30	30 à 36	34
Fréquence.	1	1	1	1	1	2	1

La variation existe donc ici indéniablement.

La planche I renferme dessinées quelques-unes des figures dénombrées ici.

LÉVY et SWINGLE ont indiqué chez la grenouille un dimorphisme sexuel chromosomien, le mâle ayant 25 chromosomes, la femelle 26. R. GOLDSCHMIDT ne l'a pas retrouvé. Il ne nous semble pas non plus exister.

(1) Ce dernier tableau n'a pas été destiné à renseigner sur la fréquence de la variation, mais seulement sur sa grandeur absolue, nous avons choisi parmi les cinèses examinées celles nous paraissant indiquer les variations les plus considérables.

2. La variation du nombre et son mécanisme présumé.

On a fait de nombreuses hypothèses pour expliquer les cas de variation constatés çà et là, toutes ayant pour but de sauvegarder la loi de constance, et du même coup de respecter l'hypothèse de l'Individualité. Sans vouloir exposer toutes ces hypothèses que l'on trouvera examinées dans DELLA VALLE (1909) nous nous bornerons à envisager les plus importantes.

Le plus souvent on a expliqué la variation par des *ruptures* ou des *fusions* de chromosomes, se produisant pendant les diverses phases de la mitose, ou bien par des irrégularités de fonctionnement de celle-ci, ou enfin comme le fait WILSON par l'existence de chromosomes surnuméraires, ici présents, là absents.

Fusions ou ruptures de chromosomes.— L'étude des éléments génitaux des Insectes a montré que dans des cas bien particuliers, où les chromosomes se présentent avec des formes différentes et bien reconnaissables, il existerait de telles associations ou scissions plus ou moins durables, les éléments considérés pouvant par la suite se séparer ou se ressouder à nouveau. ROBERTSON (1917) qui a étudié ces faits avec une attention particulière dans une partie du groupe des Orthoptères, y voit une des causes de la variabilité de ce groupe, en même temps qu'une possibilité d'explication de la Variation des Espèces.

HANCE R. (1918), tant chez *Sus scrofa* que chez une plante, *Oenothera scintillans*, l'un des mutants dérivés de l'*Oenothera Lamarckiana*, observe une certaine variabilité dans les cellules somatiques et en fournit la même explication, le « breacking up » de certains chromosomes : la variation a toujours lieu en plus du nombre normal et la somme des longueurs des chromosomes resterait à peu près la même. La même explication est fournie par MARCHAL dans un récent travail sur le nombre des chromosomes (1920) où toutes les données acquises sur l'ensemble du règne végétal sont passées en revue ⁽¹⁾.

Pour notre part, nous avons constaté (1919, travail de 1914)

(1) Nous n'avons pas eu ce travail sous les yeux et le citons d'après de Lillardi (1921).

des cas de fusion indéniable des chromosomes au moment de la maturation des éléments sexuels femelles de la Grenouille. L'ensemble des chromosomes se tasse sur la plage où apparaît plus tard le premier fuseau de maturation, en un bloc d'aspect plus ou moins irrégulier où les composants sont parfaitement indistincts. Si la figure observée ne marque pas une sorte d'impasse, et tout porte à croire le contraire, les chromosomes de la première figure de maturation doivent ensuite dériver de ce bloc.

Est-il possible de trouver de ces faits une explication physico-chimique ? Il nous faudrait tout d'abord décider si les chromosomes sont homogènes ou possèdent une structure quelconque. Un nombre considérable de faits ont été signalés en faveur de cette dernière hypothèse, il sort du cadre de ce travail d'en discuter la valeur. Nous nous bornerons à faire à ce point de vue quelques remarques.

Presque toutes les observations faites à ce sujet proviennent de matériel fixé ⁽¹⁾, c'est-à-dire où l'action des réactifs a très bien pu faire apparaître une structure inexistante.

Que l'on se remémore à ce propos les interminables discussions auxquelles ont donné lieu les questions de structure du protoplasme tant que l'on s'est borné à l'étudier après fixation.

Il semble que le plus souvent les chromosomes soient *totale-ment homogènes* ; ceci est certainement vrai pour les éléments chromatiques des Batraciens. Les cas où on leur a décrit une structure sont extrêmement particuliers. Prenons à titre d'exemple un travail récent de BOLLES LEE (1920), où il est décrit chez les chromosomes du Triton une structure tout à fait compliquée. Il est curieux de remarquer que cette structure n'est bien visible qu'à partir de l'anaphase ; d'autre part qu'elle ne se constate en toute perfection qu'après fixation par un liquide qui en raison de sa richesse en acide acétique est loin d'être parfait au point de vue cytologie fine, le liquide de BOUIN. Ce qu'il faut retenir de la description, c'est l'existence de vacuoles incolores plus ou moins nombreuses garnissant la masse du chromosome et dissimulant dans sa substance chromatique des figures plus ou moins

(1) Le filament chromatique des noyaux des glandes salivaires du Chironome et quelques cas analogues exceptés.

compliquées (Voir également à ce point de vue les excellentes figures données par BOLLES LEE dans son mémoire de 1913).

Il n'y a là rien qui ne s'observe dans la dissolution de toute substance colloïdale dans l'un de ses solvants. S'il s'agit de gélatine par exemple, se dissolvant dans l'eau chaude, on constate qu'elle *s'imbibe*, c'est-à-dire se gonfle par absorption du solvant, et que sa masse devient vacuolaire, chaque vacuole renfermant une solution de gélatine dans l'eau, le restant de la masse étant une solution d'eau dans la gélatine. Si la température augmente, les vacuoles grandissent et finalement la masse entière devient une solution d'apparence homogène.

Or nous verrons plus bas (p. 204) que l'anaphase apparaît comme une dissolution de la substance des chromosomes dans le suc nucléaire.

Il nous semble donc que l'analogie est frappante, et qu'elle nous permet de considérer la structure des chromosomes comme le plus souvent inexistante. Nous admettrons à la base de nos raisonnements théoriques la notion d'homogénéité des chromosomes, au moins au début de la mitose, et dans le cas bien défini des Batraciens, que nous avons étudié le plus particulièrement.

S'il en est ainsi, la rupture des chromosomes est due, ou bien à des actions mécaniques et ne peut alors être considérée que comme un accident, ou bien à des actions physiques, dues, tantôt aux chromosomes, tantôt au milieu, et n'étant alors sensibles que pour certains chromosomes; ce qui plaiderait en faveur d'une différence de propriétés physico-chimiques entre ceux-ci et les autres éléments, hypothèse vraisemblable comme nous le verrons. La fusion des chromosomes exige de son côté soit une identité des propriétés physico-chimiques des conjoints, soit une affinité chimique entre eux, soit enfin des conditions physiques particulières. Ces dernières peuvent certainement se réaliser, dans un système où les variations sont si nombreuses, autant externes qu'internes.

Quoi qu'il en soit la variation ainsi comprise est inconciliable avec la thèse de BOVERI, à une conception particulière de laquelle elle conduit : *il y aurait individualité non pas des éléments, mais de leur substance*. On comprend ainsi que cette individualité puisse se conserver dans le noyau au repos.

DELLA VALLE rapporte à ce point de vue une expérience intéressante et fort suggestive. Il est possible de faire cristalliser plusieurs fois une solution, mélange de plusieurs variétés d'hémoglobine, sans qu'il y ait par le mélange altération de l'une des substances : à chaque cristallisation on retrouve ces variétés avec leurs formes cristallines caractéristiques.

Des faits tirés de l'étude cytologique des hybrides végétaux viennent appuyer également cette manière de voir. R. DE LITARDIÈRE (1921) en cite un particulièrement intéressant. Il s'agit d'une Fougère hybride, *Polypodium Schneideri*, chez laquelle, à chaque division cellulaire, on retrouve à la télophase des chromosomes de deux aspects différents, se rapprochant de ceux de l'un ou de l'autre parent (*P. aureum* et *P. vulgare*, forma *cornubiense*). Ils subissent là chacun une alvéolisation différente et asynchrone.

La possibilité de l'existence de plusieurs variétés de chromatine dans le même noyau paraît donc démontrée. Cependant, elle ne semble pas générale.

Il semble assuré que, chez certains représentants de la classe des Insectes, surtout chez les formes où le nombre des segments chromatiques est peu élevé, on retrouve toujours un certain nombre d'éléments affectant les uns avec les autres des différences de taille et de forme, ce qu'il est impossible de séparer de l'hypothèse de différences physico-chimiques correspondantes. Comme exemple typique, il nous suffira de rappeler les chromosomes de *Drosophila ampelophila* (cf. p. 149).

Dans d'autres types, beaucoup plus nombreux, répandus dans la plupart des groupes zoologiques, il existe des éléments particuliers qui se retrouvent dans toutes les divisions avec les mêmes caractères différentiels. Il faut bien reconnaître qu'ils sont tout à fait à part, ainsi que l'indique le terme d'Hétérochromosomes qu'on leur applique souvent. Nous ne reviendrons pas ici sur leur étude, dont nous avons déjà dit quelques mots (p. 147). Nous nous bornons à citer à titre d'exemple, d'après KLEINERT (1909) une plaque équatoriale de spermatogonie d'*Helix hortensis* (fig. V, A). Deux chromosomes se distinguent nettement par leur taille tout à fait exceptionnelle, cinq ou six fois celle de tous les autres. Nous avons retrouvé nous-même ces deux chromosomes particuliers dans toutes les

divisions de l'animal que nous ayons examinées (plus d'une centaine) depuis le plus jeune âge jusqu'à l'adulte. Nous associons à la figure de KLEINERT un de nos dessins représentant en vue latérale l'anaphase d'une mitose intestinale tirée d'un tout jeune *Helix* (fig. IV, B). En raison de leur retard sur les autres éléments, les deux chromosomes spéciaux sont particulièrement nets. Les petits éléments sont de taille variable, oscillant autour d'une moyenne beaucoup plus petite. Il y a certainement là au moins deux sortes de chromatines distincts.

Mais de tels cas ne sont pas extrêmement communs. Le plus souvent, et il semble bien que ce soit le cas de la Grenouille, il ne semble pas qu'il existe de ces chromosomes spéciaux.

Nous figurons ici (Pl. II, fig. 14), trois métaphases en vue

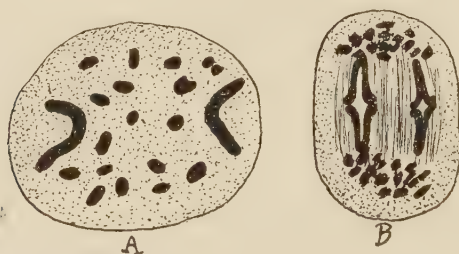


Fig. IV. — En A métaphase d'une spermatogonie d'*Helix hortensis*, d'après KLEINERT (vue polaire). Remarquer les deux gros chromosomes.

En B anaphase dans une cellule de l'intestin chez un jeune de la même espèce. On retrouve les deux gros chromosomes $\times 2000$.

polaire, tirées d'un même embryon parthénogénétique, ayant le nombre réduit de chromosomes. Elles sont dessinées avec le plus grand soin au même grossissement. Les éléments chromatiques ont été ensuite isolés et ordonnés suivant leur taille, les diagrammes ci-contre représentent le résultat (fig. V).

On voit immédiatement que les chromosomes forment ainsi une série à peu près continue, et qui dans son ensemble constitue une courbe à deux concavités successives orientées en sens inverse. C'est là une courbe typique de *distribution* ou de *mérite* selon le nom que lui donnent les statisticiens. Elle caractérise la variation fluctuante : le plus grand nombre des éléments est voisin de la taille moyenne, ceux qui s'en écartent

le plus sont les moins nombreux, et d'autant moins que leur écart est plus considérable ⁽¹⁾. C'est la raison pour laquelle il y a toujours ainsi un élément plus petit que tous les autres et un plus grand, fait qui a certainement souvent impressionné beaucoup de chercheurs et leur a fait établir des correspondances inexistantes entre chromosomes de figures différentes. On remarquera que le nombre des chromosomes les plus grands ou les plus petits n'est pas le même dans les trois figures et que

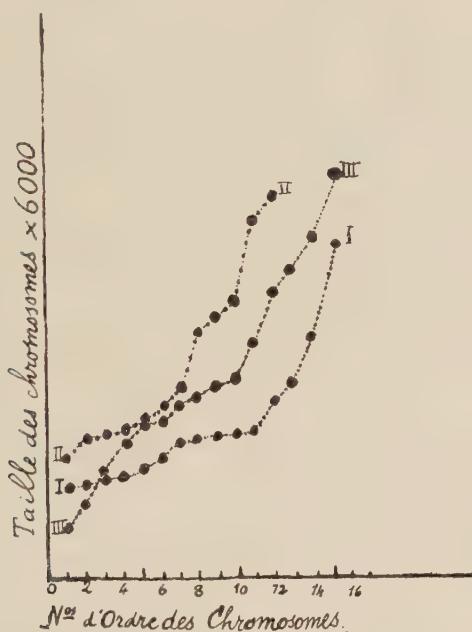


Fig. V. — Diagramme obtenu en ordonnant par leur taille les chromosomes des divisions figurées en planche : fig. 14 I, II, III.

dans le détail les trois courbes ne se correspondent pas du tout. Enfin le fait de la continuité des courbes semble prouver l'identité de substance des divers chromosomes. S'il se produit une diminution du nombre par fusion, ou une augmentation par rupture, il nous est impossible de la considérer autrement que

⁽¹⁾ On trouvera dans le travail de DELLA VALLE (1942) un long développement sur le même sujet (p. 127 à 142), les courbes théoriques calculées y sont rapprochées des courbes expérimentales, la concordance est remarquable.

comme un simple accident. La constatation en sera du reste impossible ; la longueur totale des chromosomes, seul caractère qui pourrait à la rigueur être utilisé dans ce but (HANCE) est constamment variable, même dans deux divisions ayant le même nombre d'éléments.

Quant aux chromosomes surnuméraires que E.-B. WILSON a signalé dans une seule espèce animale, *Metapodius* sp ?, il semble bien que l'on puisse les considérer chez cet Acantocéphale, en raison de leur continuité à travers les lignées cellulaires, comme représentant une variété particulière de chromatine.

Enfin les irrégularités de fonctionnement des mitoses sont également des faits exceptionnels, qui n'ont pas d'autre caractère que celui d'accidents.

En résumé; *tous les arguments invoqués pour expliquer la variation, là où elle n'existe que rarement, ne valent que pour des cas particuliers, n'ont aucune valeur d'explication générale.* Ils sont incapables de rendre compte du fait de la variation normale, physiologique, telle que DELLA VALLE l'a constatée chez la Salamandre, telle que nous la constatons nous-même chez la Grenouille.

Au lieu de chercher à rattacher les faits de variation à une loi de constance reconnue imparfaite, au lieu de les considérer comme des exceptions, nous verrons qu'il faut faire l'inverse, et considérer la constance du nombre comme cas particulier d'une loi de variation.

TROISIÈME PARTIE

La régulation du nombre des chromosomes.

CHAPITRE III

LE NOMBRE DES CHROMOSOMES CHEZ LES INDIVIDUS PARTHÉNOGÉNÉTIQUES

1. Parthénogénèse naturelle.

Si comme l'a prétendu BOVERI, les segments chromatiques sont des individus bien définis, il est intéressant de les suivre dans l'évolution d'êtres provenant d'un œuf parthénogénétiques, c'est-à-dire développé aux dépens d'un seul pronucléus, ne possédant ainsi que le nombre réduit de segments chromatiques, et de voir comment ils se comportent dans ces conditions anormales. Si le nombre reste identique pendant le développement et jusqu'à l'adulte, il y aura là un bel argument en faveur de la thèse de BOVERI. De là vient tout l'intérêt qui s'est attaché à ce problème en parthénogénèse, tant naturelle qu'artificielle.

Des difficultés techniques accompagnent la plupart des travaux cytologiques entrepris en parthénogénèse naturelle : c'est en effet le groupe des Arthropodes où ce mode particulier de développement semble le plus répandu. L'enveloppe chitineuse des ovocytes d'une part, la petitesse des éléments chromatiques, surtout chez les adultes, d'autre part, compliquent les recherches. Il ne faut donc pas s'étonner des opinions contradictoires qui ont été émises successivement sur la question.

C'est chez les Hyménoptères que l'on possède les résultats

les plus intéressants. On sait que chez l'Abeille, les œufs qui donnent naissance à des mâles se développent sans fécondation. PETRUNKEWITSCH (1901) a d'abord annoncé que le nombre des chromosomes passe dans l'œuf directement de 8 à 16, par une véritable régulation. Mais le fait fut contesté, et MEVES (1909) étudiant avec soin la spermatogénèse tout à fait particulière des faux bourdons, donna 16 comme nombre réduit. Cependant tous deux ont signalé çà et là dans les larves parthénogénétiques des îlots de cellules avec 32 et parfois même le double de chromosomes.

Presque simultanément en 1913 deux auteurs NACHTSHEIM et ARMBRUSTER ont repris la question, le premier chez l'abeille, le second chez une Osmie. Tous deux arrivent aux mêmes résultats, leur interprétation seule différant quelque peu.

Dans l'œuf vierge de l'abeille comme celui de l'Osmie, le pronucléus femelle renferme 8 chromosomes, puis, au début de la segmentation parthénogénétique qui doit donner naissance au mâle, selon l'hypothèse de DZIERZON, ce nombre se double. L'ébauche évolue avec 16 éléments. Mais le nombre ne reste tel que dans la région génitale. Les cellules somatiques se développent avec 32 ou même 64 chromosomes au bout d'un certain temps. Ceci est donc conforme aux données de PETRUNKEWITSCH. Les spermatides n'ont pas moins de 16 chromosomes, c'est-à-dire que, ainsi que l'a décrit MEVES, il n'y a pas de réduction numérique au cours des divisions de maturation. Mais, pendant la transformation en spermatozoïdes, les 16 chromosomes se soudent deux à deux, et finalement il n'y a plus dans l'élément sexuel mûr que 8 chromosomes. Il en résulte pour les œufs fécondés, après l'amphimixie un noyau à 16 éléments. Par la suite il peut se présenter également des doubléments et certaines cellules ont aussi jusqu'à 64 chromosomes (Cf. le schéma donné p. 321). NACHTSHEIM interprète ces faits par l'existence de chromosomes complexes bi- ou tétravalents dans l'œuf et qui par la suite du développement deviendraient univalents. ARMBRUSTER admet par contre une *autorégulation* par multiplication spontanée des éléments chromatiques.

Quoiqu'il en soit, le nombre des segments ne reste pas ce qu'il était dans le pronucléus femelle avant le développement, et augmente sans l'intervention d'un spermatozoïde.

Le cas des Hyménoptères ne paraît pas isolé, il semble en être ainsi dans un groupe de Vertébrés, chez les Oiseaux.

On sait depuis longtemps que les œufs non fécondés de ces animaux présentent fréquemment un début de segmentation pendant leur trajet dans les voies génitales. LÉCAILLON (1910) a étudié cette parthénogénèse rudimentaire chez l'œuf de Poule. Il a constaté que la segmentation au moins dans les stades avancés se ferait avec le nombre somatique de chromosomes. Le fait n'est pas incontestable et nous y reviendrons. Par contre le nombre ne se conserve tel, que dans un petit nombre de mitoses normales. Presque toujours il apparaît des mitoses pluripolaires et LÉCAILLON y reconnaît jusqu'à 100 chromosomes. Là tout du moins il y a une augmentation du nombre incontestable.

2. Parthénogénèse expérimentale.

Ici, plus encore qu'en parthénogénèse naturelle les résultats ont été longtemps contradictoires.

Chez l'Oursin DELAGE, à la suite de ses expériences de Mérogonie puis de parthénogénèse (1901) signale une autorégulation du nombre, se produisant de très bonne heure au cours du développement, puisqu'elle s'observe dès le stade à 4 blastomères. Sa technique très simple, étude d'œufs ou de larves colorées et montées *in toto* dans le baume, ou la glycérine, lui permet de vérifier ce fait sur un nombre considérable d'œufs. Il compte de 16 à 19 éléments au lieu de 9 qui serait le nombre réduit de l'espèce considérée « chez des dizaines d'œufs sur la plaque équatoriale vue de face, sur des centaines sur la plaque vue de profil ». Le fait semble donc indéniable. On ne peut regretter que deux choses, c'est que DELAGE n'ait pas insisté sur le nombre trouvé dans les mêmes conditions sur les œufs fécondés, et que d'autre part il n'ait pas indiqué s'il constatait la régulation sur tous les œufs qui lui passaient sous les yeux.

A l'époque où ses résultats furent publiés, les biologistes étaient presque tous partisans des idées de BOVERI. Un désaccord aussi complet avec la loi présumée de l'Individualité fut violemment attaquée par tous ses partisans. On admit que

DELAGE s'était trompé, et avait confondu le nombre réduit et le nombre double. Bien qu'appartenant à la même espèce, les oursins qu'étudiait BOVERI ont en effet non pas 9 mais 18 chromosomes au nombre réduit.

Ce n'est que plusieurs années plus tard que DRIESCH (1908) reprend la même étude, non plus en cherchant à compter les chromosomes, mais en mesurant simplement les diamètres nucléaires de ses larves parthénogénétiques, et en les comparant avec ceux de larves fécondées. Sur 110 gastrulas obtenues, il observe :

56 larves à noyaux de taille normale.			
46	»	»	» petite.
8	»	»	» double.

Etant donnée la relation nucléoplasmatique, *il faut admettre que la régulation est un fait chez l'oursin, quelque soit le nombre n , la parthénogénèse fournit des larves à n , $2n$ et $4n$* . Il semble donc bien que l'opinion de DELAGE ait été exacte ⁽¹⁾.

Depuis lors, malgré des travaux cytologiques importants effectués, sur le même matériel par BOVERI, puis tout récemment par HERLANT, VERA DANCHAKOFF, ayant trait aux premiers stades de la segmentation, on n'est pas parvenu à constater directement le phénomène.

Cas de la Grenouille. — BATAILLON (1902) nous fournit les premières données concernant le nombre. Elles ont trait à des embryons obtenus par les solutions salines. « Le nombre paraît plus près de 12 que de 24 ». Mais le matériel est défectueux, les cinèses normales étant l'exception.

A. DEHORNE (1910) trouve le nombre réduit chez des têtards obtenus par piqûres et fixés au bout de 2 et 6 jours. L'année suivante une larve plus âgée lui confirme cette donnée.

BATAILLON (1911) arrive aux mêmes résultats : « Au moins jusqu'aux ébauches de 17 heures, il n'y a pas régulation du nombre ».

Ce sont HENNEGUY et BRACHET qui les premiers (1911) donnent

⁽¹⁾ Le travail de DRIESCH semble être passé totalement inaperçu, malgré toute son importance. Il n'est pas cité par DELAGE, dont cependant il confirme les travaux. Il n'est cité par aucun auteur, pas même par PAULA HEITWIG dans sa revue critique de la parthénogénèse (Haploide und Diploide Parthenogenese. *Biolog. Zentralbl.* T. XL 1920).

l'affirmation du contraire. Les résultats du premier sont présentés sur une petite note peu explicite (*Année biologique*, 1911, p. 66). Y. DELAGE et M. GOLDSMITH (1912) ⁽¹⁾ rapportent également une communication verbale d'HENNEGUY disant que rien ne distingue, au point de vue des chromosomes les têtards normaux des parthénogénétiques. BRACHET étudiant un têtard de 18 jours « arrive à douter que le nombre soit le même dans toutes les cellules, mais est certain que dans de nombreux cas il est de beaucoup supérieur à 20 ».

J. LOEB, qui réussit à amener à l'âge adulte des têtards obtenus par piqure cherche à trancher la question et confie

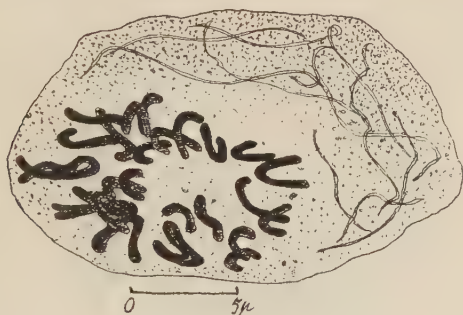


Fig VI. — Cellule de l'épiderme caudal d'un embryon parthénogénétique en division : 23 chromosomes. Dans le cytoplasme les filaments d'EBERTH (chondriosomes ou tonofibrilles).

l'étude cytologique de son matériel à R. GOLDSCHMIDT. Celui-ci conclut à la régulation, avec certaines réserves tout d'abord (in LOEB, 1918). Un travail définitif (1920) affirme nettement la régulation, au moins pour les grenouilles du sexe mâle. Il n'arrive pas à dénombrer les chromosomes des femelles.

Dans les spermatogonies, les nombres observés oscillent autour de 24. Une seule plaque équatoriale lui permet une numération certaine : il y compte 26 segments. La moitié de ce nombre se retrouve dans les spermatocytes, sous forme des dyades de la première division de réduction, dyades dont il a observé la formation par conjugaison longitudinale des seg-

⁽¹⁾ Y. DELAGE et M. GOLDSMITH. La parthénogenèse naturelle et expérimentale. Paris, 1913.

ments. Rapprochant ces faits positifs de résultats négatifs enregistrés par DEHORNE et BATAILLON, il se demande si la régulation n'est pas condition *sine qua non* de la survie des têtards.

Recherches personnelles. — Indépendamment de R. GOLDSCHMIDT, dont, en raison des difficultés dues à la guerre, nous n'avons connu le travail définitif qu'en juin 1921, nous avons abordé le problème par une première étude d'embryons et de larves âgées, en laissant de côté les premiers stades de la segmentation. Notre élevage de 1920 ne nous a permis d'étudier que 11 embryons et têtards d'âges variés compris entre 4 et 50 jours.

Les deux premiers étudiés sont venus confirmer les données

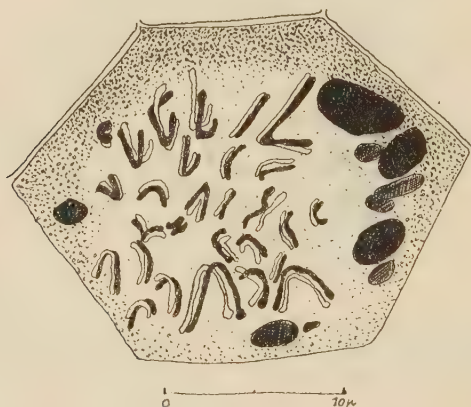


Fig. VII. — Vue polaire d'une métaphase tirée de l'épiderme d'un embryon parth. Tous les chromosomes présentent la division longitudinale.

de HENNEGUY, BRACHET et GOLDSCHMIDT. Il s'agit de têtards de 50 et de 14 jours, tous deux d'apparence normale. Ils ont tous deux le nombre diploïde de segments, compris entre 22 et 27 (8 numérations approximatives, 4 certaines) (Fig. VI). La taille des noyaux dans les divers tissus y est la même que dans les têtards normalement fécondés. Le plus âgé présente des ébauches génitales avec des ovules primordiaux parfaitement normales, comme taille et comme aspect. Restaient 9 têtards tous anormaux. Les deux plus jeunes, âgés de 4 jours et aussi les plus anormaux, sont segmentés incomplètement, c'est-à-dire, proviennent sans doute d'un œuf segmenté en trois lors du

premier clivage. Ils ont aussi le nombre double, mais avec des écarts considérables. Nos numérations les plus certaines, au nombre de 7, donnent des chiffres compris entre 15 et 28 éléments (Fig. VII). La taille des noyaux au repos oscille dans de larges limites : de 5 à 16 μ dans une même région embryonnaire (plaques latérales). Quelques divisions sont irrégulières, enfin les dégénérescences nucléaires sont abondantes. Ces deux cas d'apparence pathologiques, nous ont semblé, à première approximation, indiquer des troubles résultant d'une régulation défectueuse.

Les sept derniers têtards ont tous le nombre haploïde, avec de 8 à 13 éléments chromatiques (19 numérations presque toutes certaines) (Fig. VIII).

Pendant la saison 1921, nous avons opéré sur des bases plus vastes, et en fin de compte sommes arrivés à des résultats plus importants. 80.000 œufs ont été piqués environ. Plus d'un mil-



Fig. VIII. — Métaphase épidermique d'un embryon non régularisé, âgé de 6 jours.

lier fixés et étudiés à tous les stades du développement. Un septième seulement de ces ébauches a pu être utilisé pour une étude du nombre. Le déchet considérable est dû à de nombreuses causes, soit que dans certains œufs la segmentation ait été arrêtée de bonne heure, tout de suite après les premiers sillons, ou beaucoup plus tard et que l'on ait seulement sous les yeux des embryons morts, inutilisables pour une étude précise, soit qu'il n'y ait que des sillons superficiels, et que la segmentation ait été entièrement irrégulière, soit enfin que les mitoses ne nous aient permis que des numérations par trop approximatives.

Cent quarante embryons et larves ont pu servir, uniquement pour la numération. Sur toutes ces ébauches, 65 sont restées en possession du stock haploïde, 75 ont reconstitué le nombre $2n$ et sur ces derniers, 14 présentent des nombres aberrants.

Nous donnons dans le tableau ci-contre, le détail de tous les embryons et larves étudiés ⁽¹⁾.

Ainsi donc se trouve expliquée la contradiction inhérente aux affirmations des auteurs. Comme nous l'avons fait remarquer déjà (1920), on comprend que dans la controverse BOVERI-DELAGÉ chacun des deux auteurs ait pu également avoir raison. Ils n'ont eu que le tort de généraliser immédiatement la portée de leurs résultats, et de considérer leurs opinions comme inconciliables *à priori*.

Sans le secours d'aucun spermatozoïde, le nombre des chromosomes des ébauches parthénogénétiques, qu'elles soient d'abeille, d'oursin ou de grenouille, peut parfaitement être le même que celui des individus normalement fécondés. Il y a autorégulation, mais, chez la grenouille et l'oursin, elle n'est pas du tout obligatoire : tantôt elle s'effectue bien, tantôt elle se fait mal, enfin elle peut ne pas se faire du tout.

(¹) Nous avons fait figurer sur ce tableau quelques embryons où nous avons seulement pu effectuer des mesures nucléaires. Ils ne sont pas compris dans les chiffres donnés dans le texte.

Numération des chromosomes chez les embryons et larves parthénogénétiques

Nature de la piqûre	Age des embryons	N ^{os} de série	N ^{os} des œufs	Nombres de chromosomes observés ou tailles nucléaires	N	2N	≠ 2N et de N	Observations
Saison 1920								
Sang grenouille	8 jours	I	1	12, 13. -	1			Gastrula irrégul.
»	10 jours	II	2	12, 12. 14.	1			»
»	»	»	1	8, 9, 12.	1			»
»	8 jours	III	2	12, 12. 12.	1			»
»	»	»	1	14, 15 à 17, 19, 25, 30.		1		»
»	12 jours	IV	2	> 20, 24 ? 28.		1		»
»	»	»	1 et 2	Pas de numération, taille moyenne 6 μ .		2?		Branchies extern.
»	15 jours	V	1	12, 11, 11 ou 12, 12.	1			hydro-pique.
»	18 jours	VI	1	21, 24, 30.		1		Têtard normal.
»	30 jours	VIII	1	22, 27, 25 à 27, 22 ou 23, 23 ou 24, 24 à 26, 25. Tailles nucl. : 6 à 9 μ .		1		Têtard normal. Pattes postérieures. Membre ant. à une seule palette.
Saison 1921								
Sang gr.	12 h.	9	1	3, 5, 8, 11.	4		< Nou N	Troubles nucl.
»	9 h.	10	2	14, 12, 9.	1			fusion avec matériel étranger.
»	»	»	4	10, 13.	1			Un bloc inocule en division.
»	»	»	1	> 20.		1		
»	»	»	3	24 ou 25.		1		
»	14 h. 30	15	4	12 ou 13.	1			Un érythrocyte reconnaissable
»	19 h.	11	1	12, 13.	1			
»	»	»	2	> 16, 25.		1		
»	»	»	3	12, 16.	1			Division anaphasique.
»	»	»	4	20, 20, 19.		1		
Pulpe cobaye	20 h.	24	3	26 ? 23 ?		1		
Sang gr.	18 h.	27	1	14, 16.	1			
»	»	»	2	> 18, 26.		1		
»	»	»	4	> 20.		1		
S. tortue	24 h.	29	1	12, 13, 11, 17 ?	1		N et 2N	
»	»	»	3	13, 14, 15; 25, 27.				
»	»	»	4	11, 13.	1			
S. gren.	4 h. 10	45	4	11.	1			Divisions irrégulières.
S. tortue	23 h.	49	1	14.	1			
»	»	»	2	9.	1			
»	»	»	4	10, 15.	1			
»	»	49 ₁	1	26, > 24.		1		
»	»	»	2	23, 28.		1		
»	»	»	3	21, 28.		1		
»	»	»	4	24.		1		Une figure à huit pôles (matériel étranger).
»	»	49 ₂	1	11, 13.	1			
S. gr.	7 h.	52	2	24, 27, 28, 30 ?				
»	»	»	3	22 à 28, 21 à 25.		1		
»	»	»	3	10 à 15, 12 à 17.	1			

Numération des chromosomes chez les embryons et larves parthénogénétiques (Suite)

Nature de la piqure	Age des ébauches	N ^{os} de série	N ^{os} des œufs	Nombres de chromosomes observés	N	2N	≠ 2N et de N	Observations
Saison 1921								
S. gr.			4	13, 16 ?	1			
»		52 ₁	1	15 ?	1			
»	4 j. 1/2	53	1	> 23.		1		
»			2	19, 25.		1		
»			3	23 ?		1		
»			4	> 20, 24, 26.		1		
Lympho- gr.	16 h.	60 ₁	1	13.	1			
»			2	11.	1			
»			4	20, 20, 19.		1		
S. gr.	11 h.	62	1	12, 12.	1			
»		62 ₁	1	12, 13.				
»			2	26, 25.		1		
»	17 h.	63	1	12, 8.	1		< N ?	
»	19 h.	64	1	12.	1			
»			2	13.	1			
»		64 ₁	3	12, 13, 13, 13, 15.	1			
Leuco- cytes gr.	7 h. 50	65	2	> 24.		1		
Sang gr.	24 h.	66	3	16, > 24, 13.			Net 2N	
»			4	10, 12.	1			
»		66 ₁	1	10, 12.	1			
»			2	22, 25.		1		
»			4	14, 15.	1			
»		66 ₂	2	23.		1		
»			3	11, 12.	1			
Lympho- gr.	21 h.	68	2	8, 10, 14, 14.			Net 2N	
»			3	> 22, 26 ?				
»			4	> 20, 30 ?		1		
»				8, 9, 16, 18, > 20.			Net 2N	
Leucoc. cobaye	16 h.	69 ₁	1	6, 7, 12.	1			
»			2	11, 12, 13 coupl.	1			
»			3	20, 26, 28.		1		Division long. anaphasique.
»	16 h.	71	1	15, 16.	1			
»		71 ₂	1	14 à 16 ?	1			
Sang gr.	19 h.	75	1	13, 14.	1			
»			2	22, 26.		1		
»			3	12, 13.		1		
»			4	17, 19, 28.		1		
»	19 h.	75 ₁	1	27, 30, 32, 33, 36.			> 2N	
»			2	3, 5, 6, 8 à 10, 6 ou 7.			< N	
»			3	22, 25.		1		
»	18 h.	76 ₁	4	12, 13.	1			
»	24 h.	77	1	12.	1			
»			2	7, 12.	1			
»			3	16, 19.			> N	
»			4	11, 12, 16, 16.	1			
Erythro- cytes gr.	29 h.	79	3	25.		1		
»			4	22, 26		1		
»		79 ₁	1	8, 13.	1			
»			3	17, 21, 24.		1		
»			4	11, 14.	1			

Numération des chromosomes chez les embryons et larves parthénogénétiques (Suite)

Nature de la piqure	Âge des ébauches	N ^{os} de série	N ^{os} des œufs	Nombres de chromosomes observés ou tailles nucléaires	N	2N	≠ 2N et de N	Observations
Saison 1921								
Erythrocytes gr.		79 ₂	1	12 ou 15.	1			
»			2	12 ou 13.	1			
Sang gr.	5 jours	84	1	> 26.		1		
Erythrocytes gr.	4 jours	86	1	14.	1			Mal conformé.
»			3	11, 14, 26.			Net > 2N	»
»			4	> 20, > 30, > 60.			> 2N	»
»		86 ₁	1	Diamètres nucl.	1			Bien conformé.
»			2	Id.		1		Mal conformé.
»			3	Id.	1			Hémisegmenté.
»			4	Id. > 25.		1		Id.
»		86 ₂	1 à 4	Id.		1		Aucun de viable
Sang gr.	18 h.	89	2	13, 13.	1			
»			3	8, 9, 15.	1			
»			4	13.	1			
»		89 ₁	1	24.		1		
»	47 h.	95	1	23.		1		
»	9 jours	98	1	12.	1			Abondantes dégénérescences nucléaires.
Leucoc. tortue	20 h.	99	1	11.	1			OEuf au cyanure
Pulpe tétard G.	6 jours	101	1	11 ou 12, 10 à 13.	1			Bien conformé.
»			2	12, > 24, tailles nucléaires variables.			N et > N	Non viable.
»		101 ₁	1	Tailles nucléair.	1			»
»			2	»	1			»
»			3	»		1		»
»		101 ₂	1	»				»
Sang gr.	7 jours	103	1	22.		1		Bien conformé.
Erythro.		106	1	30, 40.				
Tortue	20 h.	106 ₁ et 2	1 et 3	?			> 2N	OEuf à KCy.
»								Id. Divisions très irrégulières.
»	20 h.	107	1					Id.
S. tortue	7 jours	114	1	23, 29.		1		Non viables.
»			2	12, 13, 14, 15.				»
Sang gr.	7 jours	115	1	12 et 13.	1			Viable.
»				18, > 18, 20	1			
»			2	> 21.		1		
»	7 jours	115 ₁	2	23, 25.		1		Non viable. Corde énorme.
S. tortue	»	116	1	12.	1			
»		117	1	23, 24, 26.		1		
Sang gr.	46 h.	118	2	20, > 24, 28, > 30.		1		Non viable.
S. tortue	8 jours	119	1	14.	1			
»			2	12, 12 ou 13.	1			Viable ?
»		119 ₁	1	12, > 14.	1			Non viable.
Sang gr.	52 h.	120	1 et 2	13.	1			Non viable.
»	6 jours	121	1	18 et > 20.		2		»
»			2	> 24.		1		Non viable.
»	6 jours	122	1	13.				»
»				Pet. et gr. noy.			N et 2N	

CHAPITRE IV

LA RÉGULATION DU NOMBRE DES CHROMOSOMES

1. Caractères de la régulation.

Comme nous l'avons indiqué plus haut, la régulation du nombre constatée chez l'abeille mâle fournit des cellules ayant un nombre assez varié de chromosomes, puisqu'il y en a tantôt 16 comme dans les glandes génitales, tantôt deux ou quatre fois autant. En est-il de même chez la grenouille?

Le nombre des cellules en division est toujours faible par rapport à celui des cellules au repos, la numération ne peut donc renseigner entièrement à cet égard. Néanmoins nous avons étudié un grand nombre de mitoses sur un même têtard. Dans les cas dits normaux de régulation, il ne nous est jamais arrivé de trouver une seule cellule où ne se constate pas approximativement le nombre $2n$. Du reste la méthode de mesure des diamètres nucléaires, ailleurs inférieure à celle des numérations nous permet ici de trancher la question. Dans un têtard bien régularisé, par exemple dans le premier têtard de 30 jours que nous ayons obtenu (Têtard, VIII, 1920. Pattes postérieures visibles, membres antérieurs formés d'une palette indivise), les variations du diamètre nucléaire sont comprises entre les mêmes limites que celles observées dans les mêmes tissus chez le témoin fécondé du même âge. La muqueuse intestinale nous fournit dans les deux cas des noyaux ayant de 6 à 9 microns. Dans les cellules du foie, les diamètres varient entre 6 et 8, 5 microns.

Nous avons retrouvé *sans aucune exception* la même concordance dans tous les tissus observés.

La régulation du nombre est donc totale, elle se trouve réalisée

dans toutes les cellules de l'individu, que rien au point de vue cytologique ne permet de distinguer d'un autre normalement fécondé. Elle n'est donc pas entièrement comparable à celle observée chez l'abeille, où elle n'est pas totale.

2. Epoque de la régulation.

Etant donné ce caractère même de généralité, on peut *a priori* penser que la régulation doit être précoce chez la Grenouille. En fait au bout de 7 heures d'évolution, à la température de 13°, une morula (65, œuf 2) ayant une vingtaine de blastomères nous donne le nombre diploïde, approximativement sur 4 métaphases, certainement sur deux anaphases, où nous comptons 22 à 28, 21 à 25, 27 à ? éléments (une couronne polaire n'a pu être dénombrée). La régulation y est donc indéniable et paraît déjà totale. Nous ne l'avons pas constatée plus tôt, en raison des difficultés techniques que présente l'étude des divisions au cours des trois premiers clivages. Il est possible qu'elle soit parfois encore plus précoce.

Cependant, si l'on compare le nombre des embryons non régularisés au nombre total des embryons, successivement dans les stades jeunes, par exemple entre 7 et 24 heures d'évolution, puis, à des âges plus avancés, au-dessus de 4 jours et jusqu'à 8 jours, on obtient des chiffres totalement différents.

Embryons jeunes : Non régularisés/Nombre total = 47/74, soit 63 0/0.

Embryons âgés et larves : Non régularisés/Nombre total = 27/73 soit 36,9 0/0.

Le nombre des régularisés augmente donc avec l'âge des embryons. Reste à savoir à quoi est due l'augmentation. N'est-elle pas simplement causée par une plus grande mortalité des embryons non régularisés ?

Mortalité des embryons parthénogénétiques. — Elle est toujours très élevée, incomparablement plus que celle des témoins fécondés. Ceux-ci, sans aucune précaution spéciale, quelle que soit la nourriture qu'on leur fournit, arrivent presque tous à la métamorphose, qui est le seul moment vraiment critique de leur élevage. Au contraire, la mortalité est toujours considérable

chez les embryons parthénogénétiques, qui meurent à tous les stades du développement, mais surtout avant la gastrulation. Ceux pour lesquels cette période critique arrive à se passer normalement, éclosent généralement presque tous, à moins qu'une cause extérieure ne viennent les altérer (infection mycétienne, par exemple). A l'éclosion, on distingue immédiatement ceux qui vont survivre de ceux qui sont condamnés. Ceux-ci présentent en effet toutes sortes de malformations, sont hydropiques, ont l'appendice caudal réduit, en cuiller, présentent une courbure anormale de leur axe antéropostérieur, enfin présentent une atrophie de certaines régions.

Les individus qui dans nos élevages ont vécu le plus longtemps, avaient le nombre diploïde (4 têtards ayant respectivement 18, 50, 64 et 84 jours d'évolution). Malgré une apparence normale, leur taille était plus faible que celle des témoins, leur croissance d'abord normale au début s'est ralentie par la suite, au point que nous avons fixé les deux premiers craignant de les trouver morts et inutilisables.

Les deux plus âgés ont commencé leur métamorphose. Au moment de sa fixation le premier avait déjà ses pattes postérieures bien développées. Il ne prenait plus de nourriture. A l'examen microscopique, nous avons constaté une répartition inusitée des réserves de graisses. Il n'y en a aucune trace dans le foie; le pancréas en est au contraire bourré, et il semble que l'on assiste à l'établissement de cette réserve, dans laquelle les *parasomes*, si caractéristiques de la cellule pancréatique des Batraciens semblent jouer un rôle actif.

Sommes-nous là en présence d'une anomalie, ou comme nous l'a suggéré M. le Professeur PRENANT, de l'expression d'une fonction larvaire particulière spéciale du pancréas, peut-être en relation avec la Métamorphose, nous n'avons pu le décider. Le dernier têtard seul est arrivé à sortir ses pattes antérieures, sans toutefois dépasser la métamorphose. L'exemple de LOEB, la réussite de son élevage, nous paraît dûe à une espèce de Grenouille plus résistante que *R. temporaria* pendant sa phase larvaire. Quoiqu'il en soit, le fait que les numérations de R. GOLDSCHMIDT ont montré que les grenouilles de LOEB avaient le nombre diploïde, joint à cette constatation que nos têtards les moins anormaux avaient le même nombre, nous invite à penser qu'il n'y a pas

une simple coïncidence, et qu'il parait y avoir une relation entre la survie des têtards et leur nombre de chromosomes, sans préjuger du reste du sens de cette relation : il est en effet *à priori* aussi vraisemblable que le nombre normal de chromosomes détermine un état optimum, ou bien que ce soit cet état optimum qui détermine l'existence du nombre diploïde.

Mais, en admettant même ce fait comme démontré, rien ne nous prouve qu'il explique la mortalité des embryons. Examinons à ce point de vue les jeunes ébauches, en cherchant une relation entre leur état et la régulation. On trouve des embryons d'allure anormale, et qui cependant ont leur nombre $2n$, et inversement, il en est qui ont l'apparence tout à fait normale, et dont le nombre est haploïde. Il semble plutôt que la mortalité dans les premiers stades soit tout à fait indépendante du nombre des chromosomes, et ne soit pas due à une insuffisance de chromatine, puisque le phénomène de régulation ne semble pas du tout y remédier, pas plus que l'abondance plus ou moins grande de matériel nucléaire introduite par le stylet ⁽¹⁾.

Des œufs fécondés normalement, qui ont été piqués immédiatement avant le gonflement de leur gangue ont montré des troubles de segmentation et une mortalité beaucoup plus considérable que normalement, bien qu'inférieure à celle des embryons parthénogénétiques. On peut donc admettre que pour une grande part, la mortalité des embryons est due à la piqure brutale de l'œuf et aux troubles qui en résultent, provoqués soit par des déplacements de substances, pendant ou après la piqure (extra-ovats), soit par l'introduction du « matériel étranger » ⁽¹⁾ et des perturbations qu'il ne peut manquer d'en résulter. A l'examen microscopique, on constate facilement ces dernières : segmentations partielles provenant d'un premier clivage en trois, manque de noyaux actifs dans certains blastomères pourvus seulement d'asters accessoires, divisions anormales provoquées par le matériel étranger. Qu'on ajoute à ceci les causes accessoires de mortalité dont la principale est l'infection de l'œuf, on pourra comprendre la mortalité des élevages,

(1) Pour explication ; cf. p. 194.

problème très complexe et que la simple observation des faits ne permet pas de solutionner définitivement (¹).

Si cependant nous n'arrivons pas à ce résultat, nous constatons avec une netteté parfaite que, au moins jusqu'à l'âge de 8 jours, *la mortalité est sensiblement la même chez les embryons à nombre haploïde et à nombre diploïde*. Nous ne pouvons donc expliquer ainsi la variation de notre pourcentage, et l'augmentation du nombre des embryons régularisés.

Une seule hypothèse nous semble alors admissible, c'est *que le phénomène de régulation se continue*, au moins pendant le début de la segmentation, aux phases morula et blastula.

(¹) Il est en effet inséparable de celui des causes de la parthénogénèse par piqure. On sait que deux théories importantes ont tenté d'élucider ce problème. La plus récente est celle d'HERLANT, théorie que l'on peut qualifier de *mécaniste* (1913). D'après elle, la segmentation de l'œuf parthénogénétique est due à la formation d'asters accessoires développés au contact du matériel inoculé (pour explication de ce terme, voir p. 194) et qui permettent à la division du pronucleus femelle de s'accomplir régulièrement ou à peu près. De sa plus ou moins grande régularité dépendrait celle de la segmentation, et le développement plus ou moins parfait de l'ébauche.

L'autre théorie est celle de BATAILLON (1912 et 1916), qui attribue le déclenchement de la segmentation à un phénomène de catalyse provoqué par le matériel inoculé, matériel dont la partie active serait purement nucléaire, d'où le nom de *caryocatalyse* donné à sa théorie.

D'après la première thèse, on interpréterait la mortalité des ébauches simplement par des imperfections des clivages initiaux, laissant de plus ou moins grands territoires anucléés ou pourvus de plusieurs noyaux. Nous avons donné une grosse importance aux facteurs mécaniques, auxquels nous attribuons la plupart des morts précoces. Mais ils n'expliquent certainement pas tout : la mortalité des têtards bien conformés, d'apparence normale, qui cependant ne dépassent pas la métamorphose.

L'hypothèse de BATAILLON, est plus prudente dans son imprécision. Il semble bien qu'à ces têtards normaux, en faisant abstraction de tout préconception finaliste, il manque quelque chose. Si le fait de leur régulation au point de vue nombre des chromosomes semble quelque peu opposé à l'hypothèse d'un déficit de la chromatine nucléaire et partant à celle de la caryocatalyse, il n'en reste pas moins à considérer l'idée d'une catalyse initiale et d'un facteur catalysant introduit, comme fort suggestive. A ce point de vue signalons l'intérêt présenté par un récent travail de M. PRENANT (*C. R. Soc. Biol.*, t. 85, 1921, p. 808). L'auteur constate la présence d'un oxydase dans le cytoplasme des spermatozoïdes de Prosobranches, alors que la même diastase fait totalement défaut chez les éléments femelles de ces Mollusques. C'est la première constatation rigoureuse venant appuyer l'idée déjà ancienne d'un apport de diastases par le spermatozoïde dans la fécondation normale. Étant donnée la richesse en diastases du cytoplasma des globules blancs, on peut se demander si le rôle des éléments inoculés par le stylet en parthénogénèse expérimentale ne consisterait pas en un apport de diastases, rôle catalytique qui se concilierait aisément avec l'hypothèse de BATAILLON.

Selon l'abondance ou la qualité de ces catalyseurs on comprendrait la mortalité plus ou moins grande dans tel ou tel cas, et en tout cas indépendante de la quantité de chromatine.

Régulations anormales. — L'étude des régulations anormales vient du reste confirmer cette hypothèse. Un premier groupe d'ébauches, présente en effet une régulation qui est certainement tardive, en raison de son manque de généralité.

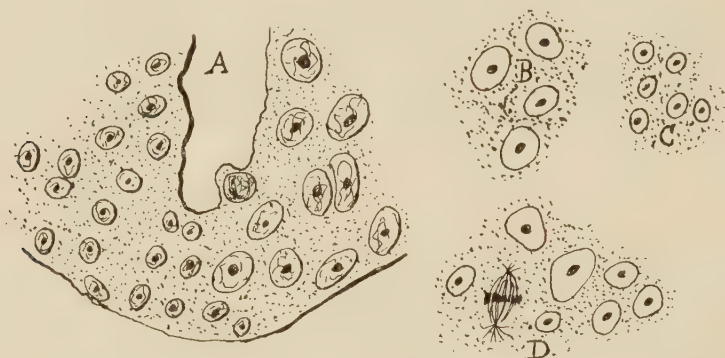


Fig. IX. — A, portion de la région inférieure de la corde dorsale. Les noyaux de droite sont plus de deux fois aussi gros que ceux de gauche. B et C, noyaux de la région vitelline. Une portion de cette même région où la taille des noyaux est inconstante $\times 300$.

Etudions comme exemple un têtard de 8 jours, d'aspect extérieur normal, chez lequel la majorité des cellules présente le nombre de chromosomes haploïde. L'épiderme est presque tout

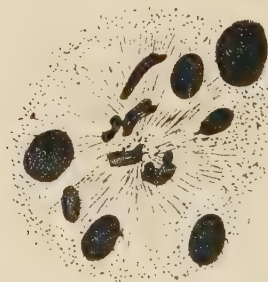


Fig. X. — Embryon hypochromatique. Vue polaire d'une division. 5 chromosomes divisés longitudinalement $\times 4000$.

entier constitué par des cellules ayant n chromosomes. L'axe nerveux, au niveau du cerveau présente sur sa moitié droite une zone importante avec de gros noyaux, ayant $2n$ chromoso-

mes (fig. IX, A). Dans la masse de cellules vitellines de la région intestinale, du côté gauche cette fois, on trouve de même un îlot à noyaux diploïdes (*id.* B) entouré de toutes parts par des noyaux haploïdes (*id.* C). On retrouve les mêmes îlots çà et là, dans diverses régions ; on les reconnaît facilement, même au faible grossissement, par suite de la densité des noyaux, plus forte là où se trouve le stock haploïde. Dans une région de cellules vitellines nous avons trouvé même une zone où, malgré l'apparence normale des mitoses, les diamètres nucléaires

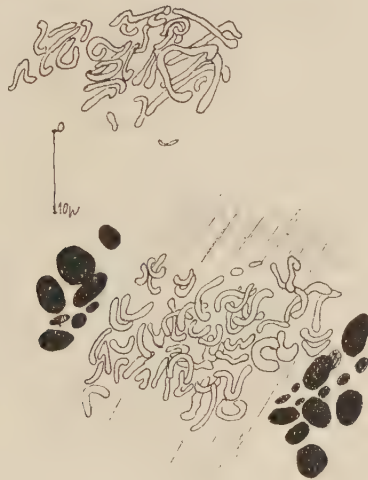


Fig. XI. — Embryon hyperchromatique. Deux dessins successifs d'une métaphase en vue oblique. Approximativement 80 chromosomes.

oscillent d'une taille à l'autre avec tous les intermédiaires (fig. IX, D).

Deux autres sortes d'anomalies, observées plus exceptionnellement que les précédentes, ont trait à des nombres soit plus petits, soit plus élevés que les nombres n ou $2n$.

Deux blastulas de 16 et 19 heures nous montrent un exemple du premier cas. L'une est particulièrement nette à cet égard : la majeure partie de ses cellules présente un nombre très faible de chromosomes, variant de 3 jusqu'à 9 (fig. X). Le reste de l'ébauche, incomplètement segmenté paraît avoir le nombre n . Dans la région normale le nombre des cellules est beaucoup

plus élevé qu'ailleurs. La longueur des fuseaux est plus faible que celle des fuseaux haploïdes.

L'exemple d'embryons à nombre plus grand que $2n$ nous est offert par une autre blastula du même âge (15 h. 30 d'évolution) qui présente des noyaux en division dans lesquels le nombre des éléments chromatiques s'élève à **8** ou **9** fois le nombre n . Sur la métaphase représentée ici seulement par **2** coupes (fig. XI) on compte de **80** à **100** segments. La taille et l'aspect de ceux-ci est normale, il n'y a parmi eux aucun bloc chromatique informe pouvant nous faire penser qu'il y a mélange avec de la chromatine introduite par le stylet. La dimension des fuseaux est élevée, mais sa longueur ne paraît pas directement proportionnelle au nombre des chromosomes. Le nombre des blastomères est à peine inférieur à celui des autres ébauches du même âge.

L'existence de ces ébauches anormales est particulièrement intéressante au point de vue de la Biologie Générale : elle marque l'identité probable du mécanisme régulateur dans les différents groupes, puisque, au moins pour ce qui concerne les ébauches à nombre de chromosomes plus grand que normal, la même anomalie se présente chez les Oursins (cf. p. 174), chez les Hyménoptères (p. 172) et chez les Oiseaux (p. 173).

CHAPITRE V

LE MÉCANISME RÉGULATEUR (I^{re} PARTIE)

1. Historique. Cas de l'oursin. Cas de la grenouille

E.-B. WILSON, à qui nous devons les premières recherches cytologiques importantes sur les œufs parthénogénétiques de l'Oursin (1901), a signalé l'existence chez certains œufs d'un stade dit *monaster*, caractérisé par un centre d'irradiation très important, qui ne se divise pas et autour duquel, régulièrement et cycliquement, à quatre ou cinq reprises, les chromosomes se segmentent, finissant ainsi par atteindre un nombre considérable. BOVERI (1903) revoit les monasters et les prend pour base d'une explication du doublement des chromosomes dans certains cas qu'il considère du reste comme exceptionnels. HERLANT (1914) et BRACHET (1916) ont repris plus récemment la même idée, et expliquent ainsi la possibilité d'une régulation.

Imaginons en effet qu'un traitement parthénogénétique convenable soit appliqué à l'œuf avant que le monaster n'ait fonctionné : la segmentation donnera naissance à un embryon ayant le nombre réduit. Si l'on retarde le moment d'action du même traitement, on pourra déclencher la segmentation après seulement que le jeu du monaster aura doublé le nombre, ou même qu'il l'aura quadruplé. On obtiendra ainsi des embryons ayant le nombre normal ou même un nombre double de celui-ci, c'est-à-dire ce qui se constate en réalité.

DRIESCH (1904) a accepté cette hypothèse, telle que la donnait déjà BOVERI, mais en doutant qu'elle parvienne à expliquer toujours la régulation. Pour lui en effet, et cet avis paraît aussi celui de WILSON, le monaster est un état pathologique. Il se demande comment expliquer par lui le nombre assez considérable des larves régularisées et leur caractère sain.

Il nous semble également possible de faire à cette hypothèse

de la régulation par l'intermédiaire des monasters, plusieurs reproches.

Cytologiquement on a toujours constaté que ce stade marque une impasse, que les œufs à monasters n'évoluent pas plus loin. C'est tout du moins ce qu'il ressort du travail de WILSON, de celui de BOVERI, de ceux plus récents de VERA DANCHAKOFF (1916) et de HERLANT (1919), c'est-à-dire de tous ceux qui ont étudié la question. L'hypothèse nous semble donc tout d'abord quelque peu gratuite.

D'autre part, à l'aide des méthodes de parthénogénèse employées chez l'oursin, toutes *méthodes à deux temps* (Méthode de LOEB, de DELAGE), il ne s'écoule jamais entre ceux-ci un intervalle suffisant pour que un ou plusieurs cycles monastériens puissent s'accomplir. On n'arrive pas non plus à comprendre, étant donnée la régularité que l'on connaît aux cycles astériens, que l'on puisse avoir dans le même élevage, autre chose qu'une seule variété d'embryons, soit à n , soit à $2n$, soit à un plus grand nombre de segments. L'expérience de DRIESCH (p. 174) donne, nous le savons, des résultats tout autres puisque côte à côte, on obtient des embryons à n , $2n$, $4n$, et intermédiaires.

L'hypothèse de BOVERI ne nous semble donc pas suffisante chez l'oursin.

Chez la grenouille, BATAILLON a retrouvé les monasters; HERLANT les a étudiés, et a décrit là les mêmes phénomènes que chez l'oursin : des cycles astériens réguliers par l'intermédiaire desquels le nombre s'élève régulièrement. Peut-on les invoquer pour expliquer la régulation ?

D'après HERLANT le cycle monastérien se décrit avec la même vitesse que celui d'une mitose normale. A notre température d'expérience (voisine de 13°) la première division n'a lieu qu'au bout de 4 heures, la deuxième au bout de 5 à 6 heures. Généralement au bout de 7 heures, les noyaux sont en division et vont donner 8 blastomères. Suivons la marche des phénomènes quand il se forme un monaster. 4 heures après l'activation, il est au repos avec le nombre $2n$ de chromosomes. Que pour une raison qu'il faudrait du reste préciser, le monaster fasse place à un diaster, et on aura au bout de 6 heures, de 5 heures même en prenant le chiffre le plus bas, et après seulement, 2 blastomères ayant $2n$ chromosomes. A 7 heures, nous

n'aurons pas plus de 4 blastomères qui ne commenceront pas encore à se diviser. En d'autres termes il doit exister, dans l'hypothèse du monaster, un *retard initial*, facile à percevoir, en raison de sa durée, qui doit être d'*au moins deux heures*. En fait, tous les retards que l'on observe ne dépassent pas une demi-heure. D'autre part nous savons que l'examen des coupes révèle au bout de 7 heures une morula aussi avancée que dans le cas normal, bien que ses noyaux soient régularisés. Nous nous sommes bornés ici au cas normal le plus favorable à l'hypothèse de BOVERI, si nous faisons le même raisonnement pour cet œuf étudié plus haut ayant une centaine de chromosomes, il ne devrait pas au bout de 15 h. 30 avoir plus de 16 blastomères alors qu'il en a au moins cinq fois autant.

Du reste, contre-partie de l'argument précédent, il existe dans nos élevages des œufs chez lesquels la segmentation s'est faite manifestement en retard sur celle des autres œufs, ce qui se reconnaît facilement, à la taille des éléments, en retard d'un clivage. Chez ces œufs il nous est arrivé de trouver parfois le nombre diploïde, mais tout aussi bien le nombre réduit.

Par l'étude des croisements hétérogènes réalisés avec des spermatozoïdes irradiés, et qui constituent parfois un véritable procédé de parthénogénèse, G. HERTWIG (1918) arrive, bien que moins explicitement, à une conclusion analogue (1). Il obtient aussi deux sortes de larves ayant le nombre n et le nombre $2n$ (établis par des mesures nucléaires). Dans une expérience où il est certain de ne pas avoir d'amphimixie, utilisant des spermatozoïdes irradiés pendant 4 h. 30 au mésothorium, il ne reconnaît pas de retard au début du développement des régularisés, et repousse également l'hypothèse des monasters.

L'hypothèse de BOVERI-HERLANT ne nous semble donc pas devoir être maintenue, tout du moins sous une forme aussi absolue. Qu'il arrive à la suite d'une cinèse avortée un doublement du nombre dans une cellule, cela nous paraît très vraisemblable,

(1) Dans certaines expériences G. HERTWIG reconnaît l'existence d'un retard initial, et constate que les œufs qui le présentent régularisent leur nombre de chromosomes. Rien ne lui prouve qu'il n'a pas eu là amphimixie : il opère en effet avec des spermatozoïdes peu altérés. Seule l'expérience que nous donnons dans le texte lui semble certaine à ce point de vue. Cependant PAULA HERTWIG dans la revue citée plus haut (p. 174, note 1) et que nous ne connaissons que depuis peu, dépassant les conclusions de son frère, ne tient pas compte de ses restrictions, et insiste beaucoup plus que lui sur l'hypothèse du monaster.

mais l'explication n'est pas générale et ne s'applique que dans des cas particuliers et sans doute aussi exceptionnels.

Dans le travail de LÉCAILLON, cité plus haut, et où l'auteur admet tout d'abord que la segmentation s'effectue avec le nombre diploïde, il semble au premier abord qu'il y ait régulation indéniable. En réalité, comme nous l'avons indiqué, le premier fait est discutable. LÉCAILLON l'interprète en supposant une absence de réduction numérique pendant la maturation des œufs vierges, hypothèse qui semble contredite par la constatation suivante.

SONNENBRODT (1908) qui étudie avec soin la maturation de la poule donne comme nombre réduit 11 ou 12, c'est-à-dire justement le nombre que LÉCAILLON considère comme diploïde. Comme d'autre part ce dernier auteur ne nous parle pas d'étude de témoins fécondés, le fait reste à vérifier. Par contre le second fait, indéniable celui-là, d'une augmentation du nombre jusqu'à des chiffres voisins de 100 est intéressant à considérer. L'auteur indique que l'augmentation est en rapport avec l'existence de figures pluripolaires, sans parler explicitement d'une relation de cause à effet entre la cinèse dérégulée et le nombre élevé de segments. Remarquons simplement qu'une mitose pluripolaire ne peut causer une augmentation du nombre dans une cellule fille, qu'au détriment d'une autre cellule. On devrait donc trouver, à côté des blastomères ayant le nombre augmenté, d'autres l'ayant diminué. LÉCAILLON ne semble pas l'avoir recherché. Nous ne reviendrons pas sur ce mécanisme, qui n'est non plus une impossibilité, mais ne doit fonctionner que dans des cas exceptionnels et pathologiques. Pas plus que le précédent il ne saurait expliquer la régulation totale et physiologique des œufs de Grenouille.

2. Le matériel étranger ⁽¹⁾

Avant d'aborder le mécanisme de la régulation du nombre, il convient d'envisager deux causes que l'on peut invoquer pour expliquer le phénomène de la Régulation.

(1) Nous employons ce terme vague de préférence à tout autre parce qu'il ne préjuge en rien de la nature active, cytoplasmique ou nucléaire, de ce que le stylet de platine introduit dans l'œuf.

On sait qu'en parthénogénèse naturelle il arrive que le second globule polaire ne soit pas émis par l'œuf, mais se refusionne avec le noyau femelle, selon l'exemple classique de l'*Artemia* étudiée par BRAUER (1899), phénomène que plus récemment BÜCHNER (1911) a constaté chez l'étoile de mer, en parthénogénèse expérimentale cette fois. G. HERTWIG (1918) invoque cet exemple pour comprendre la régulation dans les expériences relatées plus haut.

BATAILLON a répondu lui-même à cette question et recherché le second globule polaire sur ses coupes. Il l'y a toujours retrouvé. Nous l'avons pour notre part constaté à deux reprises ; c'est un travail difficile et c'est ce qui explique ce petit nombre. Mais, il est un autre argument plus important que nous pouvons faire valoir : c'est la variation du pourcentage des œufs régularisés au cours du développement qui exclut l'idée de l'autofécondation initiale. On sait d'autre part que chez l'oursin, les deux globules polaires sont émis avant que soit appliqué le traitement parthénogénétique.

BATAILLON a montré que la piqure de l'œuf occasionnée par le stylet de platine n'agissait pas comme simple traumatisme physique, mais introduisait dans l'œuf un certain *matériel étranger*, sans lequel le développement est totalement impossible.

N'y aurait-il pas contribution directe de ce matériel au doublement du nombre par suite d'une fusion de ce matériel avec le pronucléus femelle, à condition que ce soit un produit d'origine nucléaire. ?

A priori on peut s'attendre à ce phénomène : les expériences de croisement hétérogène type *Spharechinus* $\times$ *Chætopterus*, montrent à GODLEWSKY qu'il peut dans ce cas y avoir amphimixie avec augmentation du nombre, sans préjuger du reste de ce qui se passera par la suite. On sait d'autre part que l'augmentation du nombre a lieu chez l'oursin, les insectes ou la poule sans la moindre amphimixie ; on peut donc s'attendre tout aussi bien à une non-contribution.

Faisons tout d'abord connaissance avec le matériel étranger, sans nous inquiéter de son rôle en tant que déclancheur du développement.

BATAILLON l'a présenté comme un noyau de leucocyte, et l'a pris pour base de son hypothèse de la caryocatalyse (1912). Il

lui est arrivé même de le retrouver presque intact à l'extrémité de la trainée pigmentée qui marque l'emplacement de la piqûre (1919). Le plus souvent il s'agit d'un ou de plusieurs blocs chromatiques sans forme bien reconnaissable, qui s'entourent d'un grand nombre d'asters accessoires. Il nous est arrivé de retrouver dans nos œufs des érythrocytes parfaitement reconnaissables (fig. XII), dont le cytoplasma semble parfois en voie de dissolution dans l'œuf, le noyau étant en pycnose. Nous figu-

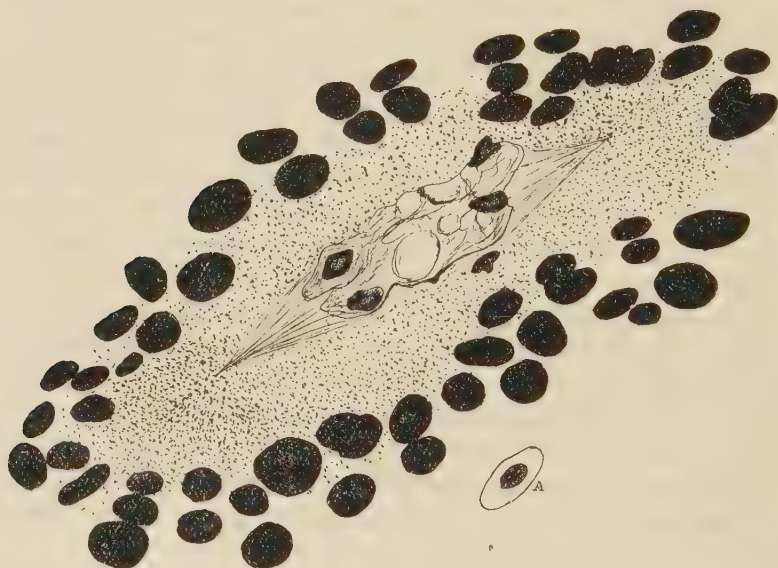


Fig. XII. -- Matériel inoculé en voie de division? En A un érythrocyte de grenouille au même grossissement, à titre de comparaison. Remarquer l'identité de taille existant entre cet élément et celui compris en B dans le matériel inoculé $\times 900$.

rons un de ces groupes où l'on reconnaît très nettement au moins deux érythrocytes. A titre de comparaison nous avons dessiné un de ces éléments normaux en A, au même grossissement. Nous avons également observé un noyau de leucocyte parfaitement reconnaissable à sa forme en bissac, et entouré d'une zone cytoplasmique acidophile où se retrouvent d'autres blocs en voie de dissolution (Pl. I, fig. 11).

Comme l'indique BATAILLON, souvent le matériel étranger est,

lors du premier clivage isolé du reste de l'ébauche par un sillon spécial (division en 3) (Fig. XIII). Néanmoins le reste de l'œuf évolue parfaitement et peut aboutir à une blastula partielle, accolée au blastomère isolé, qui est incapable de développement. Il n'y a donc certainement pas d'amphimixie. On constate que, au cours du clivage le matériel ne disparaît pas : nous l'avons retrouvé au bout de 24 heures à peu près intact isolé sur un blastomère spécial.

Nous ajouterons à la constatation de BATAILLON que dans les blastulas partielles il peut y avoir ou non régulation.

BATAILLON fait valoir un argument d'ordre physiologique cette fois : les œufs de *Bufo* fécondés par du sperme de *Rana temporaria* ne se développent jamais plus loin que la blastula. Or dans ce cas il y a amphimixie. Comme au contraire les œufs piqués par du sang de grenouille sont capables de se développer parfois très longtemps, il lui paraît que ce fait n'est possible que s'il n'y a pas eu amphimixie.

Il y a cependant des exceptions intéressantes. Tout d'abord, il arrive que, sous l'influence des asters accessoires dont il est toujours entouré, le matériel étranger se divise, tout à fait irrégulièrement d'ailleurs. La division ; simple séparation mécanique de sa masse, fournit deux ou plusieurs fragments qui peuvent même s'isoler sur des blastomères spéciaux.

Parfois les divisions du bloc chromatique se produisent entre un nombre considérable de pôles. Il arrive, principalement quand l'évolution de l'œuf est déjà avancée (blastula ayant 15 ou 16 heures d'évolution), que des chromosomes se répartissent sur ces fuseaux compliqués, associés à des blocs informes (Fig. XIV). Cette transformation est-elle susceptible de se continuer et de mener à des cellules normale, le fait paraît bien improbable et nous pensons plutôt que la chromatine étrangère doit finir par être éliminée, comme GODLEWSKY le signale chez l'oursin dans les fécondations hétérogènes.

Nous avons constaté sur une morula de 16 heures une figure



Fig. XIII. — Œuf parthénogénétique divisé en trois. Remarquer l'extraovatsur l'emplacement de la piqure $\times 18$.

intéressante à ce point de vue (Fig. XV). Le retour polaire est achevé presque complètement mais contrairement à ce qui a lieu normalement, les enclaves ne sont pas revenues sur l'équateur du fuseau, dont les fibres achromatiques sont encore renflées en forme de tonnelet. Tandis que sur la moitié de la figure représentée à droite, les anses chromatiques ont l'aspect normal, à l'exception d'une seule située dans la couronne supé-

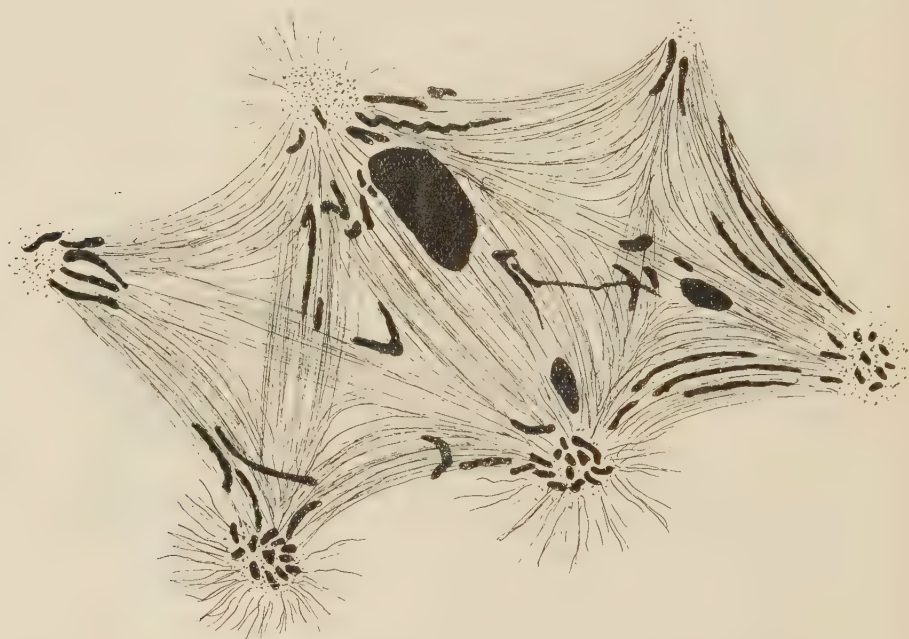


Fig. XIV. — Division irrégulière du matériel inoculé. Remarquer la présence de blocs informes et de sortes de chromosomes. La figure comporte encore 3 autres pôles dans un autre plan $\times 500$.

rieure et qui est beaucoup plus épaisse que les autres, la partie gauche du fuseau est occupée dans la région de l'équateur par une série de blocs chromatiques dont certains s'étirent plus ou moins vers les pôles. Il y a certainement là un reste de matériel étranger, peut-être éliminé par la cellule, mais dont cependant certains éléments semblent prendre part à la division au même titre que les segments normaux. Aucun des autres noyaux de l'ébauche ne semble présenter le même phé-

nomène. Si donc, comme cela semble le plus normal, la figure dénote une amphimixie antérieure, celle-ci n'a pas eu lieu au début de la segmentation, mais plutôt tardivement, dans un seul blastomère. A moins qu'il n'y ait eu formation de novo de chromatine en rapport avec le caryoplasme du noyau inoculé, hypothèse moins vraisemblable que la précédente.



Fig. XV. — Anaphase montrant à côté de chromosomes normaux des blocs informes ou des chromosomes provenant du matériel inoculé.

Nous avons observé par contre un autre cas où l'amphimixie semble s'être produite de bonne heure dans le développement. Une blastula partielle, du même âge que la précédente nous a montré dans la plus grande partie de ses éléments une série de troubles de segmentation qui rappellent ceux de l'œuf précédent avec en plus un caractère de généralité assez prononcé.

Presque toutes les divisions sont irrégulières soit parce que le nombre de leurs pôles est plus élevé que d'habitude (3,4 et plus), soit parce que les éléments chromatiques normaux sont en faible proportion, étant accompagnés par des blocs anormaux plus ou moins gros. Le nombre des chromosomes des mitoses à peu près normales est inférieur au nombre n . Enfin les noyaux au repos présentent eux-mêmes des particularités curieuses. Certains montrent un volumineux nucléole très chromatique qui ne se trouve jamais dans les autres œufs (Fig. XVI, A), d'autres plus rares possèdent deux parties distinctes par l'aspect que leur

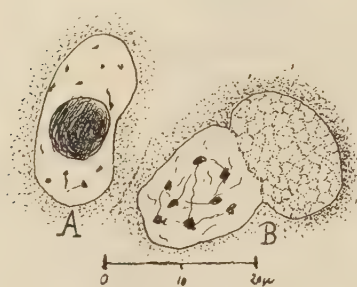


Fig. XVI. — Noyaux exceptionnels provenant d'un œuf où il y a eu fusion du pronucléus avec le matériel étranger. En A nucléole exceptionnel. En B noyau mixte ayant deux parties distinctes.

a donné le fixateur : l'une plus foncée, occupée par un réseau à mailles fines, complètement dépourvue de blocs chromatiques. Au contraire ceux-ci abondent dans la partie voisine beaucoup plus claire, et dont le réseau est à grandes mailles (Fig. XVI, B). Il semble que l'on saisisse ici directement l'existence d'une différence de composants. Sans aucun doute possible l'œuf en question a dû de très bonne

heure avoir son matériel nucléaire fusionné à celui qu'a introduit le stylet, et bien qu'il s'agisse de matériel provenant de la même espèce — l'œuf a été piqué avec du sang de Grenouille —, il y a incompatibilité entre les substances chromatiques de ces éléments.

Quoiqu'il en soit, il ne semble pas que le fait soit commun. Si l'amphimixie existe dans certains cas exceptionnels, elle n'a pas d'influence sur le nombre des segments chromatiques.

A cette restriction près, le matériel étranger ne joue aucun rôle direct, sans préjuger, bien entendu de son rôle possible de catalyseur.

CHAPITRE VI

LE MÉCANISME RÉGULATEUR (SECONDE PARTIE)

1 L'augmentation de la chromatine nucléaire dans les noyaux haploïdes

A. *Noyaux géants et division anaphylactique.* — La régulation s'effectuant encore au moins pendant le début de la segmentation, nous avons cherché à en surprendre le mécanisme. Dans cette voie nous n'avons recueilli que peu de documents,



Fig. XVII. — Noyau géant.

mais assez importants cependant pour nous permettre de choisir entre les diverses possibilités théoriques, celle qui répond le mieux aux faits.

Le premier document est du domaine de la pathologie cellulaire, et a trait aux *noyaux géants* que nous avons signalés en 1920. Ces noyaux (fig. XVII), se rencontrent dans des

conditions assez diverses, mais généralement dans des œufs ou des portions d'œufs périlclitant nettement. Ils semblent s'être formés aux dépens des noyaux ordinaires qui ont grossi, sans se diviser, jusqu'à devenir énormes. Ils sont extrêmement chargés en chromatine et représentent certainement la substance de très nombreux noyaux. Nous avons pensé tout d'abord que ces éléments étaient en rapport avec le matériel étranger inoculé dans l'œuf. Il n'en est certainement rien, nous les avons observés également chez des embryons obtenus à l'aide de solution salines hypotoniques, c'est-à-dire dans un cas où il n'y a eu aucun matériel figuré introduit dans l'œuf. Ils semblent plutôt comparables aux noyaux qui accompagnent les monasters, avec cette différence que n'en ayant jamais trouvé manifestant une activité mitotique quelconque, nous pensons que leur grossissement a dû être continu. En tout cas ils nous montrent une augmentation certaine de la quantité de chromatine du noyau.

Le deuxième et dernier document a trait à un phénomène plus normal. Un embryon de 16 heures d'évolution, ayant le nombre haploïde de chromosomes, montre, au moment du retour polaire, une *division anaphasique* particulièrement précoce et nette (fig. XVIII).

Ayant déjà étudié des centaines de divisions au même stade et qui ne présentaient rien d'analogue, le fait nous a quelque peu surpris. Nous avons repris nos préparations dans un but de vérification en y recherchant les mêmes figures. Aucun œuf régularisé ne nous a montré rien de semblable, même tout à fait à la fin de la division. Par contre nous avons retrouvé un clivage anaphasique dans un autre œuf non régularisé ⁽¹⁾ (Pl. II, fig. 15). Une couronne anaphasique en vue polaire montre avec une grande netteté ses anses divisées, mais beaucoup plus intimement appariées que dans la première. Il s'agit aussi d'une anaphase moins avancée.

Nous avons donc deux cas dans lesquels par une seconde division au cours de la même mitose, le nombre des anses se trouve doublé. On pourrait imaginer facilement que les anses résultant de la division se séparent les unes des autres,

(1) Nous croyons également l'avoir constaté chez un de nos œufs à nombre très faible de chromosomes, mais nous n'avons pu décider avec certitude s'il s'agit d'une division anaphasique ou d'un clivage prophasique précoce (fig. X).

et l'on aurait une cellule avec le nombre normal d'anses chromatiques, telle serait tout au moins, l'hypothèse la plus simple qui vienne à l'esprit. Reste à savoir ce que vont devenir ces anses anaphasiques pendant la fin de la division.

B. *La télophase dans les mitoses de segmentation de l'œuf de grenouille.* — Les anses chromatiques arrivant à l'extrémité du fuseau, dans la zone vacuolaire et très large primitivement qui représente l'emplacement des sphères attractives devenues indistinctes (Pl. II, fig. 13), sont très écartées les unes des autres,



Fig. XVIII. — Division anaphasique dans un œuf ayant le nombre réduit.

éloignées souvent de plusieurs microns. On les voit alors se gonfler chacune pour son propre compte (fig. XIX). Bientôt elles sont devenues de petits cordons irréguliers qui conservent la longueur primitive des chromosomes, mais perdent leur aspect massif. Ce sont des vacuoles allongées remplies d'un liquide clair qui peu à peu devient acidophile. Elles sont bordées par une paroi encore épaisse. Le gonflement continue ; la paroi des vacuoles s'amincit de plus en plus, présentant cependant çà et là des parties qui restent épaisses et vivement safranophiles ;

résidus chromatiques qui disparaissent ensuite progressivement. Si l'on a sous les yeux une coupe transversale de l'anaphase, on peut compter avec une netteté parfois très grande autant de vacuoles qu'il y avait de chromosomes précédemment (Pl. II, fig. 16 A), chaque vacuole étant complètement dépourvue de corps figurés dans son intérieur. De plus en plus elles tendent à prendre la forme sphérique, mais se gênent mutuellement les unes les autres, et il en résulte des fusions (fig. 16 B). Le nombre des masses diminue progressivement, finalement il n'y en a plus qu'une, irrégulière, boursouflée, ne renfermant rien dans son intérieur qu'un liquide qui se colore

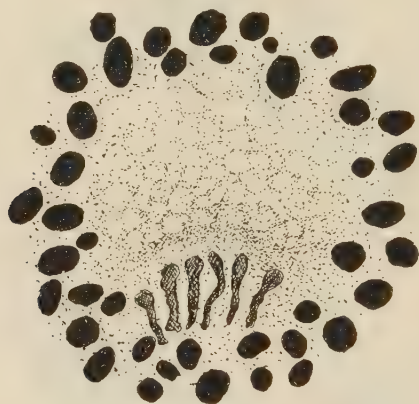


Fig. XIX. — Début de télophase $\times 4000$.

difficilement, et limitée extérieurement par une membrane extrêmement tenue : C'est le noyau au repos (fig. 16 C).

La télophase est donc ici avec une netteté particulière, une véritable dissolution de la substance chromatique, non pas à l'intérieur d'une membrane nucléaire reformée à l'avance, mais une dissolution dans le mélange caryoplasme-cytoplasme, et dont résulte la formation de la membrane, qui semble n'être en fin de compte qu'une pellicule de tension superficielle entre deux milieux non miscibles ⁽¹⁾.

(1) Considérer la membrane nucléaire comme une simple pellicule de tension superficielle peut sembler discutable. On connaît en effet des cas où la membrane nucléaire au lieu d'être une simple pellicule présente une épaisseur indéniable, et peut même être colorée à l'aide d'une technique appropriée.

On sait tout le parti qu'a voulu tirer au point de vue théorique A. DEHORNE des divisions anaphasiques constatées par lui dans les éléments sexuels et somatiques de certaines Annélides, et à la suite desquelles il aurait suivi les anses divisées et appariées pendant tout le repos mitotique, pour les voir se séparer ensuite sur le fuseau de la division suivante.

Rien de semblable ici, la disparition des anses chromatiques est complète. Du même coup *la division anaphasique se dépouille de son caractère de finalité apparente*. Le nombre des chromosomes résultant de la division anaphasique dans nos gastrulas parthénogénétiques ne peut rien signifier directement, concernant celui qui apparaîtra au début de la division suivante. Par contre, ce que la division anaphasique prouve parfaitement, de même que précédemment les noyaux géants, c'est un *excès indéniable de la quantité de chromatine nucléaire* par rapport aux autres noyaux à n éléments, excès qui dénote en toute évidence que chez certains œufs à nombre haploïde son augmentation a été plus rapide que chez les autres, et surtout que chez les œufs régularisés. Cet excès se traduit à l'anaphase par un doublement du nombre, qui n'a en lui-même aucune importance immédiate puisque les éléments qu'il fournit disparaissent ensuite, mais qui vient nous renseigner sur la richesse du noyau en chromatine.

2. Possibilité physico-chimique de l'augmentation de la chromatine nucléaire chez les noyaux haploïdes

A. *Les réserves de chromatine de l'œuf*. — On sait que pendant la durée de la segmentation de l'œuf, la masse des noyaux ne cesse de s'accroître, sans doute aux dépens de la masse cyto-

Le fait s'explique facilement au point de vue physique par la loi de l'*adsorption*. D'après GIBBS, si un corps dissous abaisse la tension superficielle d'un solvant, il tend à s'accumuler à sa surface. C'est l'adsorption positive. Or l'accumulation peut aller jusqu'à déterminer la précipitation du corps dissous, à la surface, sous la forme d'une membrane plus ou moins épaisse. A titre d'exemple, citons le cas du violet de gentiane et d'autres colorants analogues qui abaissent la tension superficielle de l'eau et dont les solutions aqueuses se recouvrent à la longue d'une telle membrane, bien connue des histologistes.

Comme le noyau est une solution complexe, il est très possible qu'il s'accumule à sa surface, dans des conditions certainement très particulières, mais que l'on peut prévoir à l'avance, une membrane ayant une origine analogue.

plasmique (GODLEWSKY 1908). Il semble que la quantité d'acide nucléique, composé le mieux défini parmi les produits nucléaires, doive augmenter proportionnellement dans l'œuf, vraisemblablement par suite d'une synthèse. Or il est possible de caractériser chimiquement l'acide en question, par exemple en dosant son Phosphore ou son Azote purique. MASING (1910) puis SCHAKELL (1911) se sont livrés tous deux à cette étude chez l'oursin, obtenant indépendamment l'un de l'autre des résultats concordants. MASING effectue les dosages ci-dessus indiqués tantôt avant la fécondation, tantôt après elle et avant la segmentation, tantôt enfin chez l'embryon ayant de 500 à 1.000 éléments. Ses résultats sont particulièrement curieux. En effet la fécondation qui double cependant le volume nucléaire, n'augmente que de $1/8$ la quantité d'acide nucléique de l'œuf. A partir de là, cette quantité reste constante pendant tout le début de la segmentation ⁽¹⁾, elle ne semble augmenter que très tard. La conclusion qui se dégage de son travail est que, *pendant toute la première segmentation, l'œuf n'effectue aucune synthèse de chromatine*, l'acide nucléique qu'il utilise pour augmenter sa masse nucléaire, existe déjà dans l'œuf non segmenté où elle est vraisemblablement contenue dans le cytoplasma. D'après ces chiffres il est facile de connaître relativement la valeur de cette réserve cytoplasmique. En effet après la fécondation le noyau de l'œuf se trouvant doublé, on peut admettre qu'il renferme autant d'acide nucléique que le noyau mâle, soit également $1/8$ de la masse totale. Les $3/4$ de la masse totale se trouvent donc dans le cytoplasme. Sous quel état s'y trouvent-ils ?

B. *Solubilité de la chromatine dans le cytoplasme.* — La chromatine des histologistes n'est pas un composé chimique nettement défini. Il est malaisé de dire à quel produit elle correspond exactement.

Après fixation, il semble que la chromatine soit constituée tantôt par un nucléoprotéide, tantôt par une nucléine, tantôt enfin par de l'acide nucléique, selon l'activité chimique plus ou moins grande des réactifs employés. La chromatine du matériel

⁽¹⁾ FAURÉ-FRÉMIET a fait également une constatation analogue chez l'*Ascaris* (Arch. Anat. Microsc., t. 15, 1913).

frais serait un nucléoprotéide qui se dissocierait par la fixation en ses éléments, selon le schéma de KOSSEL (*Nucléoprotéide* = *Albumine* + *Nucléine*. *Nucléine* = *Albumine* + *Acide nucléique*). Tous ces composés sont au moins légèrement solubles en milieu alcalin. Or, on sait que telle est la réaction normale du protoplasme.

On connaît du reste un certain nombre de faits, où l'on peut interpréter comme une dissolution très lente la disparition de fragments de chromosomes dans le cytoplasme. Tel par exemple la disparition chez l'*Ascaris* des fragments de chromosomes qui s'éliminent du noyau pendant les divisions de diminution (transformation de cellules de la lignée germinales en cellules somatiques).

Il faut donc admettre que la chromatine est, au moins sous une faible part, soluble dans le cytoplasme. Il y a là une propriété très intéressante à considérer.

Au point de vue théorique en effet, une solubilité faible de la chromatine dans le cytoplasme paraît nécessaire pour comprendre au début de la cinèse la lenteur de l'apparition des chromosomes ainsi que celle de leur disparition à la télophase. Suivons à ce point de vue l'exposé de DELLA VALLE (1912). Au moment de la mitose, la chromatine forme une phase distincte vis-à-vis du protoplasma cinétique, c'est-à-dire avec le mélange cytoplasme-caryoplasme. Entre les mitoses, elle est dissoute dans le caryoplasme, forme donc une phase homogène avec lui, distincte du reste du cytoplasme.

Quelle est l'origine de cette différence? Il s'arrête à cette hypothèse qu'elle doit consister en un élément X, substance perturbatrice de l'équilibre intercinétique, qui, augmentant dans la cellule, détermine en même temps un accroissement de la solubilité du caryoplasme dans le cytoplasme. Il en résulte tout d'abord le gonflement du noyau, puis progressivement l'apparition de la chromatine qui se sépare en une phase distincte, étant moins soluble dans le mélange que dans le caryoplasme seul. La membrane se dissipe ensuite dès que le mélange cyto-caryoplasme a atteint la même concentration dans le noyau et en son voisinage immédiat. Enfin la disparition de l'élément perturbateur dans la deuxième partie de la mitose produit des phénomènes inverses qui rendent compte de la dissolution télophasique.

La chromatine, peu soluble dans le cytoplasme, doit s'y trouver en toute vraisemblance sous forme figurée.

C. *La chromatine intracytoplasmique ou cytochromatine.* — Par des méthodes purement cytologiques cette fois, on a pu mettre en évidence dans le cytoplasme des œufs vierges une certaine quantité de chromatine. JANINA BURY (1913) a ainsi reconnu dans le cytoplasme de l'œuf d'oursin des corps figurés ayant les caractères de coloration de la chromatine. Au cours de la segmentation elle a pu suivre ces éléments et les voir diminuer

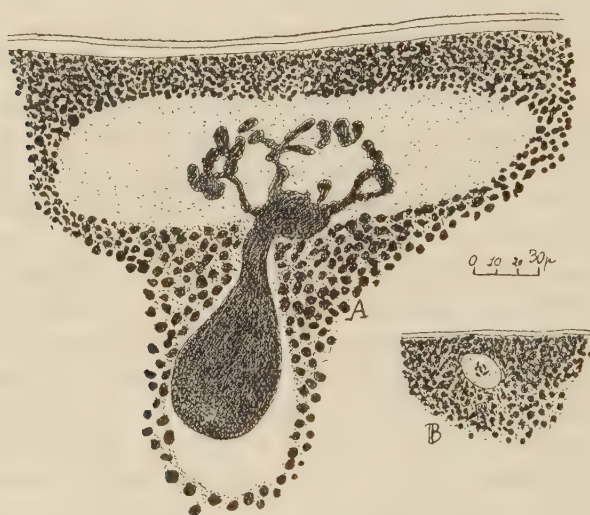


Fig. XX. — Disparition de la vésicule germinative dans le cytoplasma de l'œuf. En A accomplissement du phénomène. En B son résultat.

progressivement pour enfin disparaître. VERA DANCHAKOFF (1916) a retrouvé ces mêmes formations qu'elle considère également comme de la chromatine extranucléaire. L'auteur semble ignorer les recherches de MASING, ce qui donne encore plus de valeur à ses constatations ⁽¹⁾.

Chez la grenouille, BATAILLON a trouvé il y a déjà longtemps (1905) chez des œufs se divisant après activation par les solutions salines, des granulations intracytoplasmiques qui lui ont

⁽¹⁾ HERLANT (1919) a contesté les observations de DANCHAKOFF, sans du reste apporter la preuve du contraire.

paru être de la chromatine formée *de novo* dans l'œuf. Rien de surprenant qu'il s'agisse là aussi de chromatine normalement présente dans le cytoplasme. Nous avons nous-mêmes constaté en suivant la disparition de la vésicule germinative lors de la maturation des mêmes œufs (fig. XX) que le contenu de l'énorme vésicule devenu une masse pâteuse très basophile se déverse à un moment donné dans le cytoplasme où il finit par disparaître. Il ne subsiste de l'énorme noyau qu'une toute petite plage renfermant les chromosomes et sur laquelle s'organiseront les fuseaux de figures polaires. Sans admettre que toute la masse déversée soit de la chromatine (elle est constituée surtout par des nucléoles), il est vraisemblable qu'elle en renferme au moins une certaine quantité, qui, si elle n'est pas l'origine même de la chromatine cytoplasmique contribuera toujours à en accroître la masse.

Telles étaient nos connaissances sur cette question de la chromatine extranucléaire au moment de la rédaction de ce travail ; tout récemment (1921) deux travaux importants sont venus les enrichir. Le premier a trait justement au matériel qui nous intéresse directement ici : FAURÉ-FRÉMIET et DU VIVIER DE STREEL analysant chimiquement l'œuf de *Rana temporaria* y reconnaissent l'existence de nucléoprotéïdes dans le cytoplasme, sous la forme de tablettes vitellines. Dans un second travail FAURÉ-FRÉMIET seul, retrouve ces mêmes nucléoprotéïdes sous forme analogue dans l'œuf de *Sabellaria alveolata*. L'existence de chromatine dans le cytoplasma des œufs paraît donc avoir une certaine généralité, qui vient incontestablement à l'appui de notre exposé. L'existence de cette chromatine extranucléaire *sous forme figurée*, à l'état de plaquettes vitellines présente également un gros intérêt.

D. *L'équilibre Cytochromatine — Caryochromatine.* — Etant donnée la solubilité de la chromatine dans le cytoplasme, la présence de ces plaquettes nous indique une saturation du cytoplasme vis-à-vis de la chromatine qui y est contenue. D'autre part ainsi que J. BURY l'a constaté directement chez l'Oursin, cette saturation va sans cesse diminuant, en même temps que l'œuf qui se segmente activement, augmente sa masse nucléaire.

Il nous semble que ces deux variations en sens inverse : diminution de la chromatine dans le cytoplasme, augmentation

de la chromatine nucléaire, ne sont autre chose que *la manifestation d'un équilibre en voie d'établissement entre les deux portions de la chromatine de l'œuf*.

BERTHELOT et JUNGLEISCH ⁽¹⁾ ont montré que si l'on dissout une même substance dans deux solvants non miscibles, par exemple de l'iode dans l'eau et le sulfure de carbone, le rapport des concentrations de la substance dissoute dans les deux milieux est constant : $\frac{C_1}{C_2} = K$. C'est là un cas particulier de la loi de Distribution, qui se désigne sous le nom de *Loi de partage*.

Cette relation simple se complique quand il se produit soit une combinaison entre la substance dissoute et l'un seulement des solvants, soit quand le corps dissout se présente dans l'un des solvants avec un état moléculaire différent de celui présenté à l'intérieur de l'autre. Dans ces cas particuliers, seuls entrent en ligne de compte dans l'établissement de l'équilibre les molécules non combinées ou non transformées. La relation devient : $\frac{(C_2 - x)^2}{C_2 - y} = K'$, ou x et y représentent les nombres des molécules combinées ou transformées ⁽²⁾.

Comme nous ne savons pas, à tout prendre, si la chromatine se trouve exactement sous la même forme dans le cytoplasme et le noyau, il est bon de s'attendre à une complication plus grande ⁽³⁾. Il existe du reste une autre cause de divergence avec la loi de partage. Nos solvants sont des colloïdes ⁽⁴⁾, la substance dissoute en est également un. Or la diffusion des colloïdes dans les colloïdes est extrêmement lente, et, même en invoquant les mouvements du cytoplasme qui doivent la favoriser, il semble que l'état d'équilibre sera très long à atteindre. Le facteur *temps*, qui n'a qu'un rôle accessoire dans un équilibre de solutions ordinaires devient important dans notre maté-

(1) BERTHELOT et JUNGLEISCH, *Ann. de Chim. et Phys.*, T. 26, 1872.

(2) Pour plus de détails, voir les *Traité de Chimie Physique*.

(3) Il est probable que tel est bien le cas, puisque, au moment de la division, quand le noyau est disparu, et que, dans la cellule, le milieu caryo-cytoplasme est devenu l'unique phase continue, les formes figurées des chromosomes et des plaquettes vitellines ne sont pas identiques.

(4) C'est-à-dire des milieux hétérogènes. Cependant, étant donnée l'existence d'une phase continue, il semble que l'on puisse faire abstraction des phases dispersées qu'elle tient en suspension, et, malgré leur importance puisque la taille de leurs granules varie de la micelle colloïdale jusqu'à la plaquette vitelline, admettre que, rapidité en moins, tout se passe approximativement comme en milieu homogène.

riel biologique. D'autre part, la masse nucléaire augmente sans cesse, soit entre les divisions, soit par leur effet : l'un des deux milieux considérés ne cesse de croître en importance. Il en résulte que l'équilibre ne peut être que relatif, au moins dans les conditions normales ; il l'est d'autant plus que la segmentation est plus rapide. Pour plus de simplicité dans notre exposé, nous y négligeons cette complication et raisonnons comme si la masse nucléaire était fixe, ce qui du reste n'altère pas la marche des phénomènes considérés.

Ces restrictions faites, il semble que nous puissions envisager sur ces bases la possibilité d'une relation entre les deux chromatines et comprendre ainsi par ce mécanisme purement physique, qui s'applique d'ailleurs aussi bien à l'œuf parthénogénétique qu'à l'œuf fécondé, une augmentation de la chromatine du noyau au repos.

Il est important cependant de faire ici une distinction. La relation décrite se conçoit facilement, si elle se passe entre les deux chromatines, tant qu'elles se trouvent dans deux milieux non miscibles, c'est-à-dire entre les périodes de division. Que va-t-il se passer pendant la mitose ?

Au moment de la prophase un important changement se produit (cf. p. 207). On voit se séparer un nouveau milieu sous la forme des chromosomes, tandis que le cytoplasme et le karyoplasme deviennent miscibles, phénomène qui a pour conséquence la disparition de la membrane nucléaire. Les chromosomes apparaissent ainsi, constitués vraisemblablement par une phase riche en chromatine tenant en dissolution une quantité variable de karyo-cytoplasme, comme nous autorise à le penser l'existence du *substratum achromatique*, maintes fois attribué aux chromosomes ⁽¹⁾.

Dans ce nouveau système, *karyocytoplasme saturé de chromatine, chromatine saturée de karyocytoplasme*, il ne semble pas que l'on puisse envisager, au point de vue théorique, une augmentation quelconque de la chromatine des chromosomes aux dépens de celle du milieu qui les entoure, en admettant, qu'il n'y a pas en même temps synthèse de chromatine (cf.

(1) Remarquons qu'il s'agit parfois sans doute aussi d'une albumine ou d'une histone séparée du nucléoprotéide primitif par l'action du réactif fixateur (cf. p. 207).

p. 206) et que les conditions extérieures restent les mêmes. Nous sommes en présence d'un cas analogue à celui d'un cristal placé dans sa solution saturée, à température constante.

En fait il semble bien qu'il en soit ainsi. Nous avons conservé pendant 2 mois (du 18 février au 20 avril 1921), à une température inhibant la ponte (de $+ 1^{\circ}$ à $+ 5^{\circ}$), des grenouilles ayant leurs œufs dans l'utérus. Pendant tout ce temps leur figure d'émission du second globule polaire est restée en métaphase, et les chromosomes fixés après cette longue période se sont montrés identiques à ceux tirés des figures normales.

La métaphase, sinon une grande partie de la mitose, correspond donc à une phase d'équilibre rigoureusement stable, pendant lequel les échanges de chromatine font défaut.

Cependant, cet état ne se réalise pas brusquement; nous pouvons prévoir une période de transition, au début de la prophase, au moins pendant tout le temps qu'il existe encore une membrane nucléaire. Il est vraisemblable que alors, la possibilité des échanges doit subsister, de plus en plus restreinte à mesure que l'on se rapproche de la métaphase. Il est même possible, étant donnés les mouvements du cytoplasme, exagérés à ce moment par le développement des asters, que cette possibilité d'augmentation ne soit pas négligeable (Cf. plus bas, p. 213).

Cet exposé théorique nous amène donc au point même où nous ont amené les faits. L'augmentation de chromatine s'observe et se conçoit assez facilement. Reste à envisager ses relations avec l'augmentation du nombre des chromosomes dans l'œuf parthénogénétique.

3. La division longitudinale normale et le nombre des chromosomes

La constatation d'une division anaphasique dans certaines de nos ébauches à nombre haploïde, division qui ne semble différer que par son époque de la division longitudinale normale, nous amène à envisager le mécanisme de celle-ci. Sans vouloir reprendre complètement cette question développée abondamment par DELLA VALLE (*l. c.* p. 212 et suiv.) nous nous bornons à indiquer les résultats auxquels il parvient.

Les chromosomes doivent être soumis à la *loi de taille limite*, c'est-à-dire que, une fois une certaine taille maxima atteinte, ces éléments se divisent en deux nouveaux, suivant une direction constante, déterminée sans doute par leur structure moléculaire, et certainement pour des raisons purement physiques.

La plupart des formations cellulaires sont soumises à cette loi : il en est ainsi, par exemple, pour les grains de vitellus, les éléments des fibrilles musculaires, les cristaux de Reinke, les chondriosomes et les leucites végétaux.

Rappelons à ce point de vue une expérience de physique qui montre l'existence de cette loi dans le domaine inorganique.

Si l'on verse du Mercure progressivement sur une surface de verre ou de porcelaine strictement polie et horizontale, on forme une goutte qui est d'abord sphérique, sa tension superficielle étant suffisante pour équilibrer l'action de la pesanteur. A mesure que la taille de la goutte augmente, la surface croissant moins vite que le volume, et que la masse qui lui est proportionnelle, la tension superficielle ne peut plus équilibrer l'autre force : la goutte se déprime. On arrive ainsi à une taille limite à partir de laquelle, quelles que soient les précautions prises, la goutte ne pourra plus grossir, elle se divisera en deux ou plusieurs autres. On voit par cette expérience qu'une variation continue de l'énergie de surface (produit de l'élément de surface par la tension superficielle) peut se traduire obligatoirement par une variation discontinue de la surface du système. L'expérience est grossière, elle ne donne qu'une image simple ; il faut penser que la division des chromosomes provient d'un mécanisme analogue mais cependant plus compliqué (cf. DELLA VALLE, *l. c.*).

Dans de telles conditions, le nombre des chromosomes dépend d'une certaine relation existant entre la quantité absolue de chromatine nucléaire et la valeur de la taille moyenne des éléments chromatiques. Par exemple, si un noyau renferme $100 \mu^3$ de chromatine, et que la taille moyenne d'un segment chromatique soit de $10 \mu^3$, il renfermera 10 chromosomes. Doublant la quantité de chromatine, on doublera le nombre (DELLA VALLE 1909).

Le nombre apparaît ainsi comme résultant du quotient $\frac{Q}{q}$ où Q représente la quantité totale de la chromatine nucléaire, q la quantité correspondant à la taille moyenne d'un élément.

CHAMPY (1913) a objecté que dans de telles conditions deux noyaux, également colorables à l'état de repos, mais de tailles distinctes, devraient avoir des nombres distincts de segments alors que l'on constate qu'ils ont le même nombre approximativement. DELLA VALLE a répondu à une objection analogue de NEMEC en faisant ressortir l'impossibilité de vérification inhérente à l'affirmation ci-dessus : il faudrait pouvoir compter le nombre des chromosomes que fournira à la division suivante le noyau dont on trouve sur sa coupe colorée le volume aberrant. Quoi qu'il en soit, si nous substituons la notion de *concentration de la chromatine* à celle de sa *quantité absolue*, l'objection tombe d'elle-même.

Nous admettrons donc l'hypothèse de DELLA VALLE.

Appliquons-la dans le détail. L'augmentation de taille qui détermine en fin de compte la division n'est pas une *augmentation absolue*, puisque, ainsi que nous l'avons vu (p. 212), au moins à partir du moment où disparaît la membrane nucléaire, la quantité de chromatine de chaque segment chromatique est fixée. Or la division longitudinale à ce moment précis n'est faite que dans un petit nombre de cas : le plus souvent ce n'est que plus tard qu'elle s'effectue. C'est donc à une *augmentation relative* selon certaines directions, au détriment des autres qu'il faut la rapporter. C'est le raccourcissement causé par la tension superficielle du chromosome qui intervient, et, d'un chromosome initial long et grêle, en fait un court et épais. La taille limite ainsi atteinte, il se divise.

Par l'application de ces considérations théoriques, nous allons maintenant chercher à expliquer l'augmentation du nombre en tant que dépendance directe de l'équilibre cyto-caryochromatine.

4. La division anaphasique. La régulation

Supposons que l'augmentation de la quantité de chromatine nucléaire ait été particulièrement importante, surtout tout à

fait au début de la mitose, favorisée peut-être par le développement des asters. La division transversale étant très précoce, il se peut que le raccourcissement amène les éléments chromatiques pour la seconde fois à leur taille limite, avant la fin de la mitose : une division anaphasique a lieu.

Deux cas peuvent se présenter alors. Si l'équilibre cytochromatine-karyochromatine est voisin de sa réalisation ou réalisé, il y aura plutôt diminution qu'augmentation de la quantité de chromatine. L'excès qui s'est signalé en quelque sorte lors de la mitose précédente par le clivage anaphasique ne sera pas conservé. Il réapparaîtra à la prophase un nombre d'éléments à peu près normal, qui, s'il n'intervient pas d'autres facteurs (cf. p. 217), se conservera.

Il est cependant possible que l'excès de chromatine ne disparaisse pas en une seule division, et que au contraire, ce résultat ne soit atteint qu'après plusieurs mitoses. La période de diminution progressive de l'excès de chromatine se traduira par deux phénomènes perceptibles, un retard de plus en plus considérable des deux divisions longitudinales, normale et anaphasique, avec finalement disparition de la seconde.

Au moment où l'excès est maximum, on peut prévoir que le premier clivage sera très précoce, si précoce même qu'il pourra passer inaperçu et que l'on aura l'illusion d'une apparition des chromosomes sous forme de couples. Coïncidence d'autant plus frappante qu'il y aura en même temps une division anaphasique et disparition à la télophase des chromosomes par paires. L'idée d'une continuité entre ces couples viendra ainsi facilement à l'esprit.

Si au contraire l'équilibre est loin de sa réalisation, la quantité de chromatine ne cessera de s'accroître aussi bien pendant le repos mitotique et avant l'apparition des chromosomes qu'après leur formation et avant la disparition de la membrane nucléaire. Le nombre de chromosomes apparaissant au début de la prophase sera tout d'abord plus élevé que celui ayant apparu lors de la mitose précédente, il pourra y avoir encore une fois division anaphasique, jusqu'à ce que l'équilibre soit près de sa réalisation, et que par ce fait la quantité de chromatine du noyau soit suffisante pour déterminer l'apparition d'un nombre de chromosomes correspondant à cet équilibre. Le nom-

bre ainsi régularisé se conservera pour les raisons que nous avons appliquées plus haut à l'embryon normal.

Remarquons, et nous reviendrons plus loin sur cette question, qu'une diminution de la vitesse de segmentation doit faciliter de beaucoup la régulation, si elle n'est pas conditionnée par un facteur qui en même temps ralentit la diffusion de la chromatine dans l'œuf, et diminue ainsi la vitesse d'établissement de l'équilibre.

Il est donc possible de concevoir ainsi le rétablissement du nombre diploïde chez les embryons parthénogénétiques, si l'on admet que la segmentation y a débuté par un déséquilibre caryo-cytochromatique.

Les régulations anormales et l'absence de régulation. — L'hypothèse précédente ne va pas sans soulever quelques difficultés. Il semble en effet qu'avec elle, la régulation doive être obligatoire. Comment en effet concevoir que certains œufs puissent subsister avec le nombre haploïde, sans qu'aucune régulation n'intervienne ?

Pour ce qui est tout d'abord des régulations anormales, dans lesquelles on a tantôt n tantôt $2n$, tantôt des nombres inférieurs ou supérieurs, ou même intermédiaires, il est assez facile d'interpréter leur cas. La réserve de chromatine cytoplasmique, se trouvant sous forme figurée, peut très bien ne pas être répartie également dans tout le protoplasme de l'œuf. Au hasard des clivages, il pourra s'en trouver plus ou moins dans telle ou telle région de l'ébauche. Dans une région particulièrement pauvre, la réserve s'épuisera de bonne heure, avant l'établissement de la synthèse de chromatine, et si la segmentation continue, le nombre diminuera (¹). Les deux œufs hypochromatiques que nous avons étudiés (cf. p. 189) sont intéressants à ce point de vue. Dans les deux cas, c'est la région animale qui renferme des cellules à petit nombre de chromosomes. La région du pôle végétatif a été isolée dans l'un, par un clivage, lors de l'apparition du premier sillon, séparant la presque totalité de ce pôle.

(¹) Remarquons qu'il ne semble exister, dans ces œufs hypochromatiques, aucune relation entre la quantité de chromatine et la division cellulaire, ou, tout du moins, que l'on ne peut considérer la chromatine comme un excitant de la division cellulaire, les régions dans lesquelles les noyaux ont très peu de chromosomes, ayant au contraire, plus de cellules, en vertu de la relation K/P et le manque de chromatine n'enrayant pas du tout la marche de la segmentation.

Les figures de division les plus voisines de cette région sont au moins haploïdes.

Dans une région riche en chromatine, on aura beaucoup de chromosomes, la régulation pourra même être dépassée.

Cependant pour ce qui concerne les œufs dans lequel le nombre est très élevé, plusieurs fois le nombre n , par exemple, il ne semble pas que l'explication soit aussi simple. Le cytoplasme étant saturé de chromatine, et renfermant ainsi la plus grande partie de sa réserve sous forme figurée, la concentration de cytochromatine est constante. Il en résulte que le nombre des chromosomes est limité supérieurement d'une façon absolue. Le nombre considérable de chromosomes constaté directement correspond-il à cette limite, c'est-à-dire à l'équilibre réalisé, on pourrait le savoir, semble-t-il, en comparant ce nombre à celui à partir duquel l'évolution des monasters s'arrête. Quoi qu'il en soit, le cas nous semble difficile à comprendre aussi simplement que les autres. Nous croyons qu'il est nécessaire pour en arriver là, de faire intervenir la vitesse de segmentation qui en temps ordinaire rompt constamment l'équilibre en train de s'accomplir, et qui dans ces œufs exceptionnels aurait été beaucoup plus lente qu'ailleurs, et aurait permis à l'équilibre de se réaliser plus ou moins complètement. Nous avons du reste remarqué un léger retard dans l'évolution de l'œuf exceptionnellement hyperchromatique signalé (p. 190).

Nous avons admis implicitement dans le raisonnement précédent que la quantité de chromatine en réserve dans le cytoplasme était toujours la même. Le fait est certainement inexact, il faut envisager également la possibilité de sa variation dans les deux sens. Naturellement le nombre s'en ressentira.

Telle est l'interprétation qui nous paraît expliquer le mieux le cas des œufs qui ne se régularisent pas, leur réserve étant insuffisante. ⁽¹⁾

Cette raison n'est cependant pas valable au début de la segmentation. En effet, si petite que soit la quantité de chromatine cytoplasmique, étant donnée le peu de solubilité de la chromatine dans le cytoplasme, elle suffira largement à saturer ce milieu. Le déséquilibre initial sera toujours le même au moins

(1) Voir également à ce point de vue la note (1) de la page 220.

pendant un certain temps. Mais si ce temps est insuffisant pour que se produise la régulation — nous savons qu'elle n'est pas toujours instantanée — elle ne sera plus possible par la suite ; l'œuf gardera son stock haploïde sans jamais parvenir à le doubler.

Une augmentation de vitesse de la segmentation ⁽¹⁾ pourrait jouer-là aussi un certain rôle, son résultat étant inverse de celui que nous avons assigné à sa diminution, et contribuant à empêcher la régulation.

Nous arrivons ainsi à concevoir que, les conditions initiales du développement n'étant pas les mêmes, leurs faibles variations puissent conditionner des variations ultérieures du nombre. Suivant que la quantité de chromatine du pronucléus femelle joue le rôle principal, ou que ce rôle revienne ailleurs à celle du cytoplasme, conséquemment l'équilibre cyto-caryoplasmique s'établira en respectant le nombre, ou bien en le modifiant dans un sens ou dans l'autre.

Malgré la rigidité apparente de la loi physique, nous apercevons que son application à l'être vivant aurait pu permettre de prévoir la même série de nuances que l'observation parvient à constater.

(¹) Si la vitesse d'établissement de l'équilibre ne varie pas proportionnellement.

QUATRIÈME PARTIE

Régulation et Variation

CHAPITRE VII

L'ÉQUILIBRE DES CHROMATINES. MÉCANISME RÉGULATEUR DU NOMBRE

1. L'équilibre caryo-cytochromatine et la variation du nombre

La régulation, telle que nous venons de l'examiner, apparaît en fin de compte comme n'étant pas autre chose qu'une *variation* exceptionnelle, dans un seul sens, commandée par un déséquilibre particulier.

Le mécanisme même qui nous a permis de comprendre la régulation, en tant que cas particulier, va nous permettre de concevoir comment s'effectue maintenant le phénomène général de variation.

Prenons le cas de l'œuf normal, dont l'évolution ne commence par aucun déséquilibre. Une cause agira seule ici : l'augmentation de la masse nucléaire. Dès qu'une irrégularité quelconque se produira dans ce phénomène : vitesse plus ou moins grande de la segmentation, abondance plus ou moins grande de la quantité des plaquettes de nucléoprotéides dans tel ou tel blastomère,..... il en résultera des variations de la quantité de chromatine nucléaire, positives ou négatives suivant les cas. Par suite il apparaîtra à la prophase un nombre plus ou moins élevé que le nombre normal.

La réserve de nucléoprotéides une fois épuisée, la synthèse de chromatine doit s'établir dans chaque cellule, aux dépens

des apports alimentaires. Selon les variations de ceux-ci, on comprendra la variation du nombre.

Il est très admissible que dans certains tissus, ou même dans certains organismes, la régularité de la synthèse de chromatine soit très grande. Si la segmentation y est lente; les différences d'équilibre auront le temps de se compenser. On comprendra que le nombre des chromosomes y reste approximativement fixe.

Un autre facteur important à considérer pour expliquer le cas particulier de la fixité du nombre est la taille moyenne des chromosomes, ou d'une façon plus précise la valeur du quotient : $\frac{Q}{q}$ ⁽¹⁾, quantité totale de chromatine/taille moyenne d'un élément. Plus la valeur de ce quotient se rapprochera de l'unité, et plus le nombre sera fixe. En d'autres termes, plus petit sera le nombre et plus grand sera la taille des éléments, plus nous nous rapprocherons de la fixité absolue, voulue par la loi de constance.

Réciproquement, la variation sera d'autant plus grande que le nombre sera grand et la taille des éléments petite. On s'éloignera alors de plus en plus de la prétendue loi, qui, en fin de compte, ne doit s'appliquer en toute rigueur qu'aux cas particuliers envisagés ci-dessus.

2. Signification de l'équilibre cyto-caryochromatine

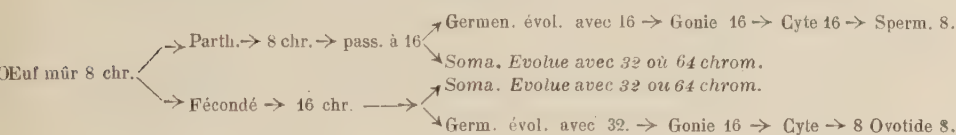
La conception d'un déséquilibre physique entre les deux portions extra et intranucléaires de la chromatine au début du développement de nos œufs, nous a permis de fournir une explication du phénomène de la régulation et nous a amenés à interpréter de même la variation physiologique du nombre des chromosomes.

(1) A propos de ce quotient, signalons une difficulté qui le concerne. Dans le début de la segmentation, au moins jusqu'au début de la gastrulation, la taille moyenne des chromosomes paraît bien être la même pour les embryons haploïdes que pour les diploïdes (Cf. fig. 12 et 13, pl. II). Plus tard, c'est-à-dire quand il semble que la régulation est devenue impossible, il n'en est plus de même : la taille moyenne est beaucoup plus forte chez les ébauches haploïdes (Cf. fig. VII et VIII, ou bien fig. 1, 2... et 14 des pl.). Il semble qu'il y ait alors à peine plus de chromatine dans les têtards diploïdes, que dans ceux qui ont encore leur nombre réduit.

Il nous reste maintenant à nous demander quelle est la raison d'être de ce déséquilibre, dont le concept peut paraître quelque peu finaliste, si l'on pense à l'interpréter comme le résultat évident d'une adaptation de l'œuf à la fécondation, ou, ce qui est presque identique, comme un manque d'adaptation à la parthénogénèse chez un organisme où cette dernière n'est pas normale.

Laissons pour un instant le cas particulier de la grenouille et reprenons celui de l'abeille dont nous avons déjà parlé (cf p. 172). Ici, les mêmes œufs évoluent côte à côte, pondus par la même femelle dans des cellules voisines du même rayon de cire. Les uns sont fécondés, les autres parthénogénétiques.

Au bout d'un certain temps, *que les noyaux initiaux aient ou non résulté d'une amphimixie, les cellules somatiques évoluent avec 32 ou parfois 64 chromosomes* comme l'indique le schéma suivant simplifié d'après NACHTSHEIM.



Il est certain qu'ici aussi il existe un déséquilibre initial, si considérable qu'il se fait sentir même chez l'œuf fécondé, et que par la suite l'équilibre s'établit, le même dans les deux sortes d'embryons, ainsi que l'indique le même nombre de chromosomes. Ceci ne veut du reste pas dire que le spermatozoïde n'ait ici aucun rôle, nous savons au contraire que généralement seuls les œufs fécondés donnent des femelles, selon la règle de DZIERZON.

Le terme d'adaptation appliqué ici manquerait vraiment de sens. Il nous semble qu'il en est de même chez la grenouille.

Nous pensons que le nombre normal des chromosomes correspond ici à un certain état d'équilibre optimum déterminé par des conditions physico-chimiques particulières inhérentes à la composition des éléments de l'œuf et des cellules qui en dérivent.

Ce n'est sans doute pas le seul état d'équilibre possible — l'exemple des espèces ou variétés animales ou végétales chez

lesquelles le nombre des chromosomes diffère par exemple du simple au double, ou d'un multiple de n , comme chez l'*Ascaris* du cheval ($2N = 2$ ou 4) ou *Salvinia natans* ($2N = 8, 16$ ou 48). (De LITARDIÈRE (1921), nous engage *à priori* à la prudence. Cependant nous avons vu (cf. p. 185), que les embryons chez lesquels le nombre est différent de $2n$ ne semblent pas être viables. Il ne nous paraît pas téméraire d'admettre provisoirement que l'équilibre correspondant au nombre $2n$ est le seul qui se concilie avec la vie normale de la Grenouille rousse.

L'existence de cet état physique optimum explique alors, tout aussi bien l'amplitude peu élevée généralement de la variation, que le retour au nombre normal quand, naturellement ou expérimentalement il a été produit une variation de nombre d'une grosse importance, comme tel est le cas habituel en parthénogénèse (¹).

L'état optimum considéré réalise alors un véritable mécanisme régulateur du nombre, établi sur les bases physico-chimiques d'un équilibre de partage.

(¹) Le principe très général de LE CHATELIER (1884), ou du déplacement de l'équilibre mobile, s'appliquerait donc également ici.

CHAPITRE VII

RÉGULATION, VARIATION ET L'INDIVIDUALITÉ DES CHROMOSOMES. RÉSUMÉ DES RÉSULTATS

Laissant de côté le cas particulier des hétérochromosomes ou des autres variétés spéciales de chromosomes, qui correspondent, sinon à des individus figurés, tout du moins à des substances chimiques distinctes, et auxquelles les hypothèses précédentes s'appliquent, *il est totalement impossible de concilier soit la Régulation du nombre, soit sa Variation avec la thèse de BOVERI.*

Pour ce dernier, les chromosomes sont des individus, vivant et se divisant activement dans les cellules, existant même pendant les repos cinétiques. Leur nombre est définitivement fixé à partir de la fécondation. Si un seul pronucléus se divise comme dans les œufs parthénogénétiques, sa descendance ne pourra avoir un seul chromosome de plus que lui, exception étant faite pour des cas exceptionnels, pathologiques, ou, une cinèse ayant avorté après division des chromosomes, les éléments fils demeurent côte à côte.

Pour DELLA VALLE comme pour nous, les chromosomes sont des formations transitoires, apparaissant à la prophase par une sorte de cristallisation d'une substance chimique, obéissant comme toutes celles-ci aux lois physiques de la matière brute, et ainsi disparaissant à la telophase par une dissolution totalement dépourvue de mystère. Le nombre de ces éléments est soumis à la variation fluctuante, comme tous les détails morphologiques d'un être vivant. Un seul pronucléus se divisant dans des conditions expérimentales ou naturelles, ses chromosomes subissent une augmentation, conséquence directe d'une loi physique.

Cependant si ces hypothèses permettent bien de rendre compte des phénomènes observés par nous, ou par d'autres sur des sujets analogues, permettent-elles aussi d'expliquer ceux

qui ont le plus influé sur l'esprit de BOVERI et l'ont amené à son hypothèse.

Nous nous bornerons à étudier le cas si remarquable de l'*Ascaris megalocephala*. BOVERI suit, tout d'abord après la fécondation normale, et chez certains noyaux à vrai dire peu nombreux, les chromosomes pendant la phase de repos nucléaire, constatant ainsi la continuité nécessaire à sa théorie, entre les chromosomes de deux mitoses successives. La même observation a été refaite depuis par de nombreux auteurs. Elle est facile à interpréter par une dissolution incomplète dans le suc nucléaire, soit que la solution se rapproche de sa saturation, soit que la vitesse de segmentation lui enlève le temps de s'accomplir. Ce dernier argument est sans doute le préférable, car sur les figures même de BOVERI on constate que presque toujours la dissolution est complète, donnant souvent naissance à autant de vacuoles qu'il y a de chromosomes, ce qui s'explique tout simplement en suivant la marche de la télophase (cf. p. 203).

Des anomalies de nombre s'observent fréquemment au cours de la segmentation. Il trouve ainsi depuis 3 jusqu'à 7 anses chromatiques, ce qu'il explique, le fait paraît bien prouvé, par un fonctionnement irrégulier des figures d'émission polaire, ou bien par la fécondation anormale d'un œuf possédant 2 chromosomes après réduction (type *bivalens*), par un spermatozoïde n'en ayant qu'un (type *univalens*).

Ce qui étonne BOVERI, c'est de constater alors que ces nombres anormaux se conservent parfaitement durant toute la segmentation.

Si l'on compare l'un à l'autre les volumes du caryoplasme et du cytoplasme successivement chez l'œuf d'*Ascaris* et chez celui de Grenouille, on trouve les deux quotients approximatifs : $1/280$ pour le premier ; $1/100.000$ pour le second. On conçoit sans peine que la quantité de chromatine du noyau dans le premier cas ait, dans l'équilibre final cytocaryoplasmique, plus d'importance que dans le second. On peut comprendre que les œufs hyperchromatiques gardent leur excès initial de cette substance. D'autre part il ne semble pas y avoir de réserve de chromatine sous forme figurée dans le cytoplasme, rien d'étonnant à ce que l'embryon hybride *uni* $\times$ *bivalens* ne reforme pas un noyau à $2n$.

Tout aussi bien que l'hypothèse de BOVERI, celle de DELLA VALLE, complétée par la nôtre permet de comprendre ces faits. Elle permet d'en comprendre d'autres devant lesquels l'Individualité ne peut que s'incliner, la Variation et la Régulation du nombre ⁽¹⁾.

Elle n'est encore qu'une hypothèse que nous nous sommes efforcés de rendre le plus possible conforme aux faits, les imperfections, les points faibles ne lui manquent pas, mais elle a le mérite, croyons-nous d'être totalement étrangère aux préoccupations vitalistes ou finalistes, elle reste donc ainsi sur la seule voie vraiment scientifique qui puisse mener à la compréhension des phénomènes.

RÉSUMÉ DES RÉSULTATS

1. — Chez la grenouille (*Rana temporaria* L.) normalement fécondée, le nombre des segments chromatiques n'est pas constant, mais varie entre des limites étendues, aussi bien dans les cellules génitales que dans les éléments somatiques.

2. — Les embryons et larves du même animal, obtenus par parthénogénèse expérimentale (procédé BATAILLON) possèdent un nombre de chromosomes qui, tantôt reste le même que celui

(1) Les conclusions que nous donnons ici sont absolument opposées, pour ce qui concerne le nombre et l'Individualité des chromosomes, à celles auxquelles parvient R. de LITARDIÈRE dans son important travail sur les chromosomes des Fougères (1921).

Cet auteur, s'appuyant principalement sur des observations faites sur le vif et qui lui ont montré un réseau à l'intérieur des noyaux au repos, chez une espèce de Fougère (cf. sa fig. 13), considère la permanence des chromosomes dans le noyau au repos comme un fait établi, et conclut à leur Individualité. Même en admettant comme démontrée la permanence des chromosomes dans tous les noyaux par lui observés, il n'en reste pas moins vrai qu'il existe de nombreux cas où, indiscutablement le noyau est optiquement vide, même à l'ultramicroscope. Sans vouloir revenir sur ce qui a été dit de la Grenouille, nous citerons à titre d'exemple l'*Ascaris* (cf. par ex. FAURE-FREMIET, 1913). On trouvera dans BOTTAZZI, 1913 (*Das Protoplasma und die Körpersäfte. Premier vol du Handbuch der vergleichende Physiologie.* HANS WINTERSTEIN) un exposé critique de la question (structure du noyau au repos).

Pour démontrer l'inexistence de la Variation du nombre, l'auteur se base sur la permanence des chromosomes. Bien qu'il reconnaisse lui-même que son matériel ne semble pas très favorable à l'étude des chromosomes il donne à ses conclusions une portée générale. On nous permettra de mettre en doute ce dernier point.

du pronucléus, tantôt se régularise, devenant égal à celui des œufs normalement fécondés.

3. — La régulation se produit tout au début de la segmentation, elle est totale, c'est-à-dire que toutes les cellules de l'ébauche, normalement régularisée possèdent le nombre $2n$.

4. — Elle présente une série d'anomalies, tout à fait comparables à celles offertes dans les mêmes conditions par d'autres œufs parthénogénétiques, soit chez l'oursin, soit chez l'abeille, ou même la poule.

5. — La non émission du second globule polaire, pas plus que le matériel introduit dans l'œuf par la piqûre n'ont d'action directe sur elle.

6. — Elle n'est pas due à un doublement du nombre dans lequel les chromosomes possèderaient un rôle actif, mais semble l'expression d'un mécanisme purement physique d'équilibre de partage entre la chromatine du noyau et une cytochromatine existant dans le cytoplasma.

7. — Le même mécanisme permet de comprendre la variation du nombre au même titre que sa régulation.

8. — La variation du nombre et son Autorégulation sont totalement incompatibles avec l'hypothèse de l'Individualité des chromosomes, tout du moins si on lui laisse le sens que lui a donné BOVERI.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ARMBRUSTER (L.). — Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese solitärer Apiden. *Arch. f. Zellf.*, XI, 1913.
- BATAILLON (E.). — Nouveaux essais de Parthénogénèse expérimentale chez les Vertébrés inférieurs. *Archiv. f. Entwickl. Mech.*, XVIII, 1904.
- Le problème de l'imprégnation circonscrit par l'imprégnation sans amphimixie. *Arch. de Zool. Expé.*, série 3, t. VI, 1910.
- La parthénogénèse de Amphibiens et la fécondation chimique de LEB. *Ann. des Sc. Natur. Zool.*, 1912.
- Nouvelle contribution à l'analyse expérimentale de la fécondation par la parthénogénèse. *Ann. Inst. Pasteur*, 1916.
- Analyse de l'activation par la technique des œufs nus et la polyspermie expérimentale chez les Batraciens. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 1919.
- BOLLES LEE. — La structure des chromosomes et du noyau au repos chez *Paris Quadrifolia*. *La Cellule*, t. XXVIII, 1913.

- The structure of certain chromosomes and the mechanism of their division. *Quart. Journ. Mic. Sc.*, t. LXV, 1920.
- BOYER. — Zellenstudien II, III, V, VI, 1888 à 1908. *Jenais. Ztschr.*, t. XXII, XXIV, XXXIX et XLIII.
- BRACHET (A.). — Etudes sur les localisations germinales. *Arch. de Biol.*, t. XXVII, 1911.
- L'œuf et les facteurs de l'ontogénèse. Paris, 1916.
- BRAUER (A.). — Zur Kenntnis der Reifung des Eies. *Arch. f. Micr. Anat.*, t. XLIII, 1899.
- BÜCHNER (P.). — Die Reifung des Seesterneies bei experimenteller Parthenogenese. *Arch. f. Zellf.*, VI, 1914.
- BURY (J.). — Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Temperatur 0°C auf die Entwicklung der Echinideier. *Arch. f. Ent. Mek.*, t. XXXVI, 1913.
- CARNOY et LEBRUN. — La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens. *La Cellule*, t. XVII, 1899.
- CAULLERY (M.). — Les problèmes de la Sexualité. Paris, 1914.
- CHAMPY (C.). — Recherches sur la spermatogénèse des Batraciens. *Arch. de Zool. Exp.*, t. LII, 1913.
- DANCHAKOFF (V.). — Studies on cell-division and cell-differentiation I. *Journ. of Morph.*, vol. XXVII, 1916.
- DEHORNE (A.). — Recherches sur la division de la cellule. *Arch. de Zool. Exp.*, s. 5, t. IX, 1911.
- Le nombre des chromosomes des Batraciens et des larves parthénogénétiques de Grenouille. *C. R. Acad. Sc. de Paris*, t. CLIX, 1910.
- Sur le nombre des chromosomes chez les larves parthénogénétiques de Grenouille. *Id.*, t. CLII, 1913.
- DELAGE (Y.). — Etudes expérimentales sur la maturation cytoplasmique et la Parthénogénèse artificielle des Echinodermes. *Arch. Zool. Exp.*, s. 3, t. IX, 1901.
- DELLA VALLE (P.). — L'organizzazione della cromatina studiata mediante il numero dei cromosomi. *Archivio Zoologico*, vol. IV, 1909.
- La Morfologia della cromatina del punto di visto fisico. *Id.*, vol. VII, 1912.
- DRIESCH. — Zur Cytologie parthenogenetischer Larven von Strongylocentrotus. *Arch. f. Entw. Mek.*, t. XIX, 1905.
- FAURÉ-FRÉMIET et du VIVIER DE STREEL. — Composition chimique de l'œuf et du têtard de *R. temporaria*. *C. R. Ac. Sc. Paris*, t. CLXXIII, p. 613, 1921.
- FAURÉ-FRÉMIET. — Constitution de l'œuf de *Sabellaria alveolata* L. *Id.*, p. 1023.
- FLEMMING (W.). — Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Lebenserscheinung, t. II. *Arch. f. Micr. Anat.*, Bd. 18, 1880 et t. III, Bd. 20, 1882.
- GODLEWSKY (E.). — Plasma und Kern-substanz in der normalen und durch äussere Faktoren veränderte Entwicklung der Echiniden. *Arch. f. Entw. Mek.*, t. XX, 1908.
- Studien über die Entwicklungserregung. *Id.*, t. XXXIII, 1911.
- GOLDSCHMIDT (R.). — Kleine Beobachtungen ü. Ideen zur Zellenlehre II. *Arch. f. Zellf.*, t. XV, 1920.
- GUÉNOT (E.). — L'œuvre de Morgan Th. H. et le mécanisme de l'Hérédité. Hérédité et Variation. *Revue Gén. des Sc.*, t. XXIX, p. 262 et 302, 1918.
- HAECKER (V.). — Die Reifungserscheinung. *Ergebn. d. Anat. u. Ent. Ges.*, t. VIII, 1899.

- HANCE (R.). — Variations in somatic chromosomes. *Biol. Bull.* t. XXXV, 1918.
- HENKING (G.). — Ueber Spermatogenese bei *Pyrrhocoris apterus*. *Zeit. f. Wiss. Zool.*, t. LI, 1891.
- HENNEGUY. — Note à la suite d'une analyse de A. DEHORNE. *Année Biol.*, 1911, p. 66.
- HERLANT (M.). — Etudes cytologiques du mécanisme de la parthénogénèse expérim. chez les Amphibiens, *Arch. de Biol.*, t. XXVIII, 1913.
- Sur l'existence d'un rythme périodique dans le déterminisme des premiers phénomènes du développement parthénog. chez l'oursin. *C. R. Acad. Sc.*, Paris, 1914.
- Sur le mécanisme de la première segmentation de l'œuf d'Oursin dans la parthén. expérim. *Id.*, 1914, t. CLVIII.
- Le mécanisme de la parthén. expérim. chez les Amphibiens et les Echinodermes. *Bull. Scient.*, s. 7, t. VIII, 1917.
- Comment agit la solution hypertonique dans la part. exp. (Méthode de LœB) II. Le mécanisme de la segmentation. *Arch. Zool. Exper.*, t. LVIII, 1919.
- HERTWIG (O.). — Cellul. Zeit. Und Streitfragen. *Arch. f. Micr. Anat.*, t. XXXVI, 1890.
- HERTWIG (G.). — Kreuzungsversuche an Amphibien. *Arch. f. Mikr. Anat.*, t. XCI, 1918.
- HOVASSE (R.). — Les phénomènes de maturation de l'œuf chez *Rana fusca*. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXII, 1919.
- Le nombre des chromosomes chez les têtards parthénogénétiques de grenouille. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 1920, p. 1211, t. CLXX.
- Contribution à l'étude histophysiologique des parosomes dans le pancréas d'un Têtard de *Rana temporaria*. *C. R. Biol.*, t. LXXXIV, 1921.
- L'activation parthénogénétique des œufs de Grenouille dans les milieux Hypotoniques et Hypertoniques. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1921, p. 1173.
- La régulation du nombre des chromosomes chez les embryons parthénogénétiques de Grenouille. Son mécanisme. *Id.*, 1922, p. 72, t. CLXXIV.
- KLEINERT (A.). — Spermatogenese von *Helix nemoralis* und *hortensis*. *Jenais. Ztschr.*, t. XI.V, 1909.
- KÖLLIKER (A.). — Zellkerne und Vererbung. *Zeits. F. wiss. Zool.*, t. XLII.
- Karyoplasma U. Vererbung. *Id.*, t. XLII, 1886.
- KRIMMEL. — Chromosomenverhältnisse in generative und somat. Mitosen bei *Diaptomus*, *Zool. Anz.* t. XXXV, 1910.
- LEBRUN (H.). — Les cinèses sexuelles des Anoures. *La Cellule*, t. XVIII, 1901.
- LÉCAILLON. — La parthénogénèse chez les Oiseaux. *Arch. d'Anat. Micr.*, t. XII, 1910.
- LÉVY (F.). — Studien zur Zeugungslehre. *Arch. f. Micr. Anat.*, t. LXXXVI, 1915.
- LITARDIÈRE (R. DE). — Recherches sur l'élément chromosomique dans la caryocinèse somatique des Filicinées. *Lierre*, 1921.
- LOEB (J.). — The sex of parthenogenetic frogs. *Proc. Nat. Acad. Washington*, 1918.
- MARCHAL (E.). — Recherches sur les variations numériques des chromosomes dans la série végétale. *Mém. Acad. Roy. de Belg.*, 2^e série, IV, 1920.
- MASING (E.). — Ueber das Verhalten der Nucleinsäure bei der Furchung des Seeigleies. *Zeits. f. Physiol. Chemie*, t. LXVII, 1910.

- MEVES. — Die Spermatocyten-Teilung bei der Honigbiene. *Arch. f. Mik. Anat.*, t. LXX, 1907.
- MENDEL (G.). — Versuche über Pflanzenhybriden (1865). Traduction. *Bull. Scient.*, s. 6, t. I, 1907.
- MORGAN (T.). — The mechanism of mendelian heredity. H. Holt and Co, 1913.
Cf. également articles de GUYÉNOT.
- NACHTSHEIM (H.). — Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene. *Arch. f. Zellf.*, XI, 1913.
- PETRUNKEWITSCH. Die Richtungskörper und ihr Schicksal im befruchteten und unbefruchteten Bienereier. *Zool. Jahrsb. Anat.*, t. XIV, 1901.
- RABL. — Ueber Zellteilung. *Morph. Jahrb.*, bd. X, 1885.
- ROUX (W.). — Über die Bedeutung der Zellteilungsfiguren, Leipzig, 1883.
- ROBERTSON (W.-R.-B.). — Chromosome studies. I à III. *Journ. of Morph.*, t. XXVI, XXVII, 1915-17.
- STRASBURGER. — Zellbildung und Zellteilung. Jena, 1880.
- SCHAKELL. — Phosphorus metabolism during early cleavage of the Echinoderm egg. *Science N. S.* XXXIV, 1911.
- SONNENBRÖDT. — Wachstumsperiode der oocyte des Hühnes. *Arch. f. Mik. An.*, t. LXXII, 1908.
- SWINGLE (N.-W.). — The accessory chromosome in the Frog. *Biol. Bull.*, t. XXXVIII, 1917.
- VAN BENEDEN (E.). — Recherches sur la maturation de l'œuf et la fécondation de *l'Ascaris megalocephala*. *Arch. de Biol.*, t. IV, 1883.
- WEISMANN (A.). Das Keimplasma, eine Theorie der Vererbung. Jena, 1892.
- WILSON (E.-B.). — Experimental studies in Cytology. A cytological study of artificial Parthenogenesis in sea Urchin. *Arch. f. Entw. Mek.*, t. XXII, 1901.
- Studies on chromosomes, I, II, III, IV, V et VI. *Journ. of experimental zool.*, t. II, III, VI, IX, 1905, 1906, 1909, 1910.
- VOM RATH (E.). — Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese von *Salamandra maculosa*. *Ztschr. f. wiss. Zool.*, t. LVII, 1894.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Géologie. — Phénomènes métamorphiques ^{et orogéniques} ~~organiques~~ dans la partie orientale du Massif central.

Botanique. — La Parthénogénèse dans le monde végétal.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 23 décembre 1921.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

M. MOLLIARD.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

P. APPELL.

PLANCHE I

EXPLICATION DE LA PLANCHE I

Fig. 1 et 2. — Les deux coupes se rapportent à une même prophase d'embryon fécondé, au stade du bouchon d'Ecker. Les parties non hachurées des chromosomes correspondent aux points affleurant le plan de coupe. On peut compter de 30 à 33 chromosomes. Le grossissement est indiqué par une échelle (Projection d'un micromètre objectif au même grossissement).

Fig. 3, 4 et 5. — Trois métaphases en vue polaire ayant trait à un embryon analogue. On remarquera en 3 la torsion prophasique qui subsiste encore sur plusieurs chromosomes, on y comptera 25 éléments. Il y en a 32 sur la figure 4 et seulement 22 en 5.

Fig. 6. — Vue oblique d'une métaphase de 1^{re} émission polaire. Dessin combiné d'après deux coupes. On compte 13 éléments.

Fig. 7 et 8. — Deux vues polaires de métaphases de 2^e émission polaire. 12 chromosomes en 7, 14 en 8. Remarquer la division longitudinale perceptible sur un grand nombre de chromosomes.

Fig. 9 et 10. — Deux coupes d'une même métaphase de second globule polaire. Un des éléments marqué *a* est à cheval sur les deux coupes.

Il y a ainsi 14 chromosomes tous divisés longitudinalement.

Fig. 11. — Matériel étranger introduit par le stylet. On distingue la trainée pigmentaire, le noyau en bissac provenant sans doute d'un leucocyte, entouré de cytoplasme qui ne se mélange pas avec celui de l'œuf, et qui renferme des blocs chromatiques de signification inconnue.



Étude des chromosomes chez *R. temporaria*.

PLAN DE LA VILLE DE PARIS

Le plan de la ville de Paris, tel qu'il est représenté sur cette planche, est le fruit d'une longue et minutieuse étude. Il a été dressé par un des plus habiles géographes de notre époque, et il offre une vue exacte et complète de la capitale française. On y voit toutes les rues, les places, les ponts, les fortifications, et les divers quartiers qui la composent. Les noms des lieux sont écrits en lettres claires et lisibles, et les distances sont indiquées avec précision. Ce plan est d'une grande utilité pour les voyageurs, les militaires, et les géographes. Il est également un ouvrage de curiosité pour les habitants de la ville, qui y trouvent une vue d'ensemble de leur patrie.

EXPLICATION DE LA PLANCHE II

Fig. 12 et 13. — Deux anaphases provenant de deux œufs du même âge (16 heures d'évolution) dont l'un a le stock haploïde, l'autre le nombre double. Une seule coupe a été représentée dans les deux cas. Le grossissement est le même.

Fig. 14, I, II, III. — Trois métaphases d'un embryon de 6 jours, provenant de la même région des plaques latérales. Les chromosomes en nombre de 15 (I), 12 (II), 15 (III) ont été ordonnés suivant leur taille et ont servi à construire le diagramme donné dans le texte (Fig. V, p. 69).

Fig. 15. — Vue polaire d'une couronne d'anaphase sur laquelle se distingue la division anaphasique. De 14 à 17 anses dont trois seulement ne paraissent pas divisées. Peut-être proviennent-elles d'ailleurs, au moins pour ce qui concerne les deux le plus à droite, d'un couple dissocié.

Fig. 16. — Obtenue en groupant trois stades de plus en plus avancés de la télophase (A, B, C). On compte facilement en A 12 vacuoles correspondant aux 12 chromosomes de l'anaphase précédente. En B les vacuoles ont conflué, en partie tout au moins. Enfin en C le noyau au repos est reformé.
